

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

RAFAEL ASSIS DE SOUZA

**MÉTODOS DE MANEJO PARA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei*  
FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)**

ALEGRE, ES  
FEVEREIRO, 2019

RAFAEL ASSIS DE SOUZA

**MÉTODOS DE MANEJO PARA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypotenemus hampei*  
FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração Fitossanidade, linha Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

Coorientador: Prof. Dr. Hugo Bolsoni Zago

Coorientador: Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Júnior

ALEGRE, ES

FEVEREIRO, 2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado  
de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

S719m Souza, Rafael Assis de, 1988-  
MÉTODOS DE MANEJO PARA BROCA-DO-CAFÉ,  
Hypothenemus hampei FERRARI (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) / Rafael Assis de Souza. -  
2019.  
77 f. : il.

Orientador: Dirceu Pratissoli.  
Coorientadores: Hugo Bolsoni Zago, Hugo José Gonçalves  
dos Santos Júnior.  
Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e  
Engenharias.

1. Manejo fitossanitário. 2. Monitoramento. 3.  
Semioquímicos. 4. Atrativos. 5. Controle biológico. 6. Beauveria  
bassiana. I. Pratissoli, Dirceu. II. Zago, Hugo Bolsoni. III.  
Santos Júnior, Hugo José Gonçalves dos. IV. Universidade  
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e  
Engenharias. V. Título.

CDU: 63

---

RAFAEL ASSIS DE SOUZA

**MÉTODOS DE MANEJO PARA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei*  
FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração Fitossanidade, linha Entomologia

Aprovada em: 21 de fevereiro de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Dirceu Pratisoli - UFES  
(Orientador)



Pesq. Dr. José Salazar Zanuncio Júnior - INCAPER



Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi - UFES



Prof. Dr. Victor Dias Pirovani - Ifes Campus Alegre



Prof. Dr. Victor Luiz de Souza Lima - Doctum

Dedico aos meus pais, Arnaldo e Maria das  
Dores, aos meus irmãos, Hildefonso, Suely,  
Adriana e Jacinto, à minha esposa Júlia, ao meu  
filho João Guilherme e aos familiares e amigos.

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, por todas as bênçãos recebidas, pelo direcionamento, sabedoria, discernimento e por jamais me deixar desistir diante dos momentos difíceis;

Aos meus pais, Arnaldo e Maria das Dores, por todo amor, apoio e por todos os ensinamentos;

Aos meus irmãos Hildefonso, Suely, Adriana e Jacinto, por todo carinho, amor, dedicação, e por me ajudar a realizar esse sonho;

À minha esposa Júlia e ao meu filho João Guilherme, por todo amor, pelo companheirismo, dedicação e por estarem ao meu lado em todos os momentos;

A meu sogro Seu João e Minha sogra Dona Viviane, cunhado e cunhada, sobrinhos e sobrinhas, tios, tias, primos e primas, amigos pelo carinho;

A Universidade Federal do Espírito Santo - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de formação;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001;

Ao meu orientador Prof. Dr. Dirceu Pratisoli pela orientação, ensinamentos e por proporcionar todas as condições para a realização dos estudos;

A Empresa Koppert do Brasil Ltda. pelo apoio e colaboração com o trabalho, fornecendo os materiais utilizados nos experimentos;

Aos membros da banca examinadora, Dr. José Salazar Zanuncio Junior, prof. Dr. Leandro Pin Dalvi, prof. Dr. Victor Luiz de Souza Lima e prof. Dr. Victor Dias Pirovani; prof. Dr. Luciano Menini, pela disponibilidade e colaboração;

Aos professores, Dr. Hugo Bolsoni Zago e Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior pela coorientação;

Ao meu amigo Luizão por toda ajuda nos experimentos a campo e na estatística;

A Francieli por toda ajuda na criação dos insetos e na realização dos experimentos;

Aos funcionários e amigos do NUDEMAFI, Julielson, Isac, Fernando, Gabriel, Jean, Anderson, Lúcelia, Luíza, Mariana, Felipe, Emily, Laura, José Romário, Roberta, Lorena, Priscila, Beatriz, Carlos Magno, Leonardo, Carlos Paiva, pela amizade e ajuda;

A Sr. Ian, Regina, Renan, por permitirem as realizações dos experimentos em suas propriedades;

Ao Ifes, campus de Alegre, por conceder a área experimental para realização do estudo;

Enfim, a todos que direta e indiretamente me ajudaram a chegar até este momento.

## **BIOGRAFIA**

Rafael Assis de Souza, filho de Arnaldo José de Souza e Maria das Dores Assis de Souza, nasceu em São João das Missões, Minas Gerais, em 23 de maio de 1988. Formado em Técnico em Agropecuária e Agroindústria pelo Instituto Federal Goiano campus Urutaí-GO em 2004. Engenheiro Agrônomo pela Universidade Estadual de Montes Claros-MG em julho de 2012. No mesmo ano ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, área de concentração Fitossanidade, linha Fitopatologia com conclusão em 2014. Em 2015, iniciou o Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, área de concentração Fitossanidade, linha Entomologia, defendendo a tese em fevereiro de 2019.

# **MÉTODOS DE MANEJO PARA A BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)**

## **RESUMO**

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) é considerada a praga mais importante da cafeicultura mundial, devido às perdas quantitativas e qualitativas na produção de café arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*C. canephora* Pierre ex A. Froehner). O método de controle mais utilizado é o químico, no entanto, após o uso do principal inseticida, o endossulfan, ser proibido no Brasil em 2013, os níveis de infestação de *H. hampei* aumentaram em todas as regiões produtoras de café. Por essa razão, a busca por novos métodos de manejo eficazes, economicamente e ambientalmente viáveis, torna-se de suma importância. Neste sentido, métodos de manejo como o comportamental, com a utilização de armadilhas coloridas contendo atrativos e o biológico com o uso do fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales: Cordycipitaceae) vêm assumindo um importante papel dentro do Programa de Manejo Fitossanitário de Pragas. Assim, os objetivos do presente estudo foram: (1) determinar a associação entre a mistura etanol: metanol em diferentes proporções e cores das armadilhas, identificar as mais eficazes no monitoramento e possível controle da broca-do-café em campo, além de determinar o período de maior pico da broca; (2) verificar a eficiência de compostos voláteis na atratividade de *H. hampei* em laboratório e em campo; (3) avaliar a mortalidade da broca-do-café, pré e pós- aplicação do fungo *Beauveria bassiana* associado a emulsificantes em campo. A partir dos resultados, verificou-se que: (1) todas as misturas atrativas e cores das armadilhas capturaram adultos da broca-do-café; durante todos os estádios fenológicos do fruto, constatou-se a presença da broca-do-café; (2) as misturas etanol:cinamaldeído e etanol:metanol atraíram um maior número de broca-do-café em olfatômetro; A mistura etanol:metanol propiciou uma melhor eficácia na captura da broca-do-café em todas as épocas de avaliações em campo; (3) Os agentes emulsificantes (Goma arábica e X1) em mistura com o fungo *B. bassiana*, não aumentaram a mortalidade da broca-do-café; A aplicação do fungo *B. bassiana* pré-liberação da broca, propiciou maior mortalidade.

Palavras-chave: Manejo fitossanitário; monitoramento; controle biológico.



**MANAGEMENT METHODS FOR THE COFFEE BORER, *Hypothenemus hampei* FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)**

**ABSTRACT**

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) is considered the most important pest in the world coffee industry, due to quantitative and qualitative losses in the production of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) and conilon (*C. canephora* Pierre ex A. Froehner). The most commonly used control method is the chemical, however, after the main insecticide use, endosulfan, be banned in Brazil in 2013, the infestation levels of *H. hampei* increased in all coffee producing regions. For this reason, the search for new methods of management that are effective, economically and environmentally viable, become of paramount importance. In this sense, management methods such as behavioral, with the use of color traps containing attractive and the biological with the use of the fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales: Cordycipitaceae) have been assuming an important role within the Program of Phytosanitary Management of Pests. Thus, the objectives of the present study were: (1) determine the association between the ethanol mixture: methanol in different proportions and colors of the traps, identify the most effective ones in the monitoring and possible control of the coffee berry borer in the field, in addition to determining the its peak period; (2) to verify the efficiency of volatile compounds in the attractiveness of *H. hampei* in the laboratory and in the field; (3) to evaluate the mortality of coffee berry borer, pre and post fungus application *Beauveria bassiana* associated with emulsifiers in the field. From the results, it was verified that: (1) all the attractive blends and colors of the traps captured adults from the coffee berry borer; during all the phenological stages of the fruit, it was verified the presence of coffee berry borer; (2) the mixtures E:Cinamaldeído and E:Metanol attracted a greater number of coffee berry borer in olfactometer; The mixture E:Metanol improved efficiency in the capture of coffee berry borer in all times of field evaluations; (3). The emulsifying agents (Gum and X1) in admixture with the fungus *B. bassiana*, did not increase mortality of coffee berry borer; The application of fungus *B. bassiana* before entry into the coffee fruit, increased mortality.

Keywords: biological control; monitoring; management phytosanitary.

## SUMÁRIO

1.1 INTRODUÇÃO .....	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
1.2.1 <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) .....	2
1.2.1.1 Fase adulta .....	2
1.2.1.2 Fase de ovo, larva, pré-pupa e pupa .....	3
1.2.1.3 Ciclo biológico da broca-do-café.....	4
1.2.1.4 Comportamento reprodutivo.....	4
1.2.1.5 Comportamento de abandono dos frutos .....	5
1.2.1.6 Oviposição .....	6
1.2.1.7 Resposta olfativa de <i>H. hampei</i> a voláteis de frutos de café .....	6
1.2.2 Métodos de manejo para <i>Hypothenemus hampei</i> .....	7
1.2.2.1 Controle cultural .....	7
1.2.2.2 Controle químico .....	7
1.2.3 Métodos de manejo para <i>Hypothenemus hampei</i> .....	8
1.2.3.1 Controle comportamental: uso de armadilhas com atraentes químicos para monitoramento e redução populacional da broca-do-café .....	8
1.2.3.3 Controle biológico: fungo entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> .....	9
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	11
2 CAPÍTULO II.....	18
RESPOSTA DA BROCA-DO-CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i> FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) A ESTÍMULOS OLFATIVOS E VISUAIS EM CAMPO.....	18
RESUMO .....	18
ABSTRACT .....	19
2.1 INTRODUÇÃO .....	20
2.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	22
2.2.1 Captura da broca-do-café nas armadilhas.....	22
2.2.2 Incidência da broca-do-café na lavoura.....	23
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
2.4 CONCLUSÕES .....	28
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
3 CAPÍTULO III .....	33

ATRATIVIDADE DE SEMIOQUÍMICOS A <i>Hypothenemus hampei</i> EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO.....	33
RESUMO .....	33
ABSTRACT .....	34
3.1 INTRODUÇÃO .....	35
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	36
3.2.1 Atratividade de compostos voláteis a <i>Hypothenemus hampei</i> em olfatômetro.....	36
3.2.2 Resposta olfativa de <i>Hypothenemus hampei</i> a novos semioquímicos em campo .....	38
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.3.1 Atratividade de compostos voláteis a <i>Hypothenemus hampei</i> em olfatômetro.....	40
3.3.2 Resposta olfativa de <i>Hypothenemus hampei</i> a compostos voláteis em campo.....	42
3.4 CONCLUSÕES .....	45
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
4 CAPÍTULO IV .....	50
MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i> EM CAMPO, PRÉ E PÓS-APLICAÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO <i>Beauveria bassiana</i> (BALSAMO) ASSOCIADO A EMULSIFICANTES .....	50
RESUMO .....	50
ABSTRACT .....	51
4.1 INTRODUÇÃO .....	52
4.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	53
4.2.4 Obtenção do fungo.....	54
4.2.5 Emulsificantes.....	54
4.2.6 Obtenção dos insetos .....	54
4.2.7 Preparo da solução .....	54
4.2.8 Aplicação do produto.....	55
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
4.4 CONCLUSÕES .....	60
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	66

## 1 CAPÍTULO I

### 1.1 INTRODUÇÃO

A importância da cafeicultura no mundo é notável, principalmente como produto agrícola de exportação para aproximadamente 80 países em desenvolvimento, com um rendimento anual estimado em mais de 70 bilhões de dólares. A área total cultivada com café compreende mais de 11 milhões de hectares, com uma produção total de 115 milhões de sacas de café de 60 kg ao ano. Estima-se que aproximadamente 20 milhões de famílias em todo o mundo dependem dessa cultura para sua subsistência (VEGA et al., 2015).

Entretanto, em muitos países a produção de café é ameaçada por uma série de pragas e doenças (JARAMILLO et al., 2006). Os prejuízos econômicos causados por insetos pragas à cultura do cafeeiro foram estimados em aproximadamente 900 milhões de dólares ao ano (OLIVEIRA et al., 2013). Dentre estes, a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), considerada a praga mais importante da cafeicultura mundial, é responsável por perdas quantitativas e qualitativas na produção (INFANTE et al., 2012). Somente no Brasil, o maior produtor e exportador mundial de café, os prejuízos anuais ultrapassam 300 milhões de dólares (OLIVEIRA et al., 2013; MOTA et al., 2017).

As fêmeas acasaladas de *H. hampei* constroem um orifício no fruto de café, preferencialmente na região da coroa, e depositam seus ovos em uma galeria construída no endosperma da semente, de modo que tanto as larvas como os adultos causam danos consideráveis aos frutos (MATHIEU et al., 2001; JARAMILLO et al., 2009). A broca-do-café possui um comportamento endofítico, passando todo seu ciclo de vida dentro do fruto, o que dificulta o seu controle (DAMON, 2000). O método de controle mais utilizado é o químico. No entanto, o principal inseticida utilizado, o endosulfan, foi banido em diversos países, incluindo o Brasil, devido à toxicidade para os seres humanos e meio ambiente, além do desenvolvimento de resistência do inseto (BRUN et al., 1989; DAMON, 2000). Após a proibição desse inseticida no Brasil, em julho de 2013, os níveis de infestação de *Hypothenemus hampei* aumentaram nas principais regiões produtoras (MOTA et al., 2017). Por essa razão, a busca por novas estratégias para o manejo da

broca-do-café economicamente e ambientalmente viáveis torna-se de suma importância (ARISTIZÁBAL et al, 2016).

Neste sentido, métodos de manejo de *H. hampei*, como o comportamental por meio de uso de armadilhas contendo atrativos químicos e o biológico com o fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales: Cordycipitaceae) vêm assumindo um importante papel dentro do Programa de Manejo Fitossanitário da broca-do-café. Todavia, tornam-se necessários estudos para melhor compreensão e eficácia destes métodos. Neste contexto o presente trabalho teve por objetivo avaliar métodos de manejo para broca-do-café em condições de campo.

## 1.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1 *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

Popularmente conhecida como broca-do-café, *Hypothenemus hampei* é uma praga de origem africana, encontrada em todos os países produtores de café. Na América do Sul, o primeiro registro de ocorrência desta praga foi no Brasil, em 1913, no estado de São Paulo, sendo que a partir de 1924, os prejuízos econômicos já se apresentavam mais evidentes, e desde então, a broca espalhou-se por todas as regiões produtoras do país e por vários países nas Américas e no caribe (DAMON, 2000; INFANTE et al., 2014; INFANTE, 2018).

#### 1.2.1.1 Fase adulta

O adulto de *H. hampei* é um pequeno besouro de cor preta brilhante, de corpo cilíndrico e ligeiramente recurvado para a região posterior. O pronoto apresenta forma semicircular e superfície lisa, contém uma grande quantidade de asperezas simétricas em espiral, as quais apresentam cerdas grandes, cilíndricas e filiformes (BERGAMIN, 1943).

Os élitros possuem superfície lisa e brilhante, apresentando 11 interestrias e 10 estrias dispostas longitudinalmente (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011). Há um par de espiráculos no mesotórax, localizados ventrolateralmente na membrana intersegmental entre o protórax e o mesotórax; esses espiráculos contêm um grande

número de cerdas em sua abertura, provavelmente envolvidas com a redução de perda de água e retenção de material particulado (VEGA et al., 2015).

As mandíbulas são estruturas fortemente esclerotizadas, articuladas dorsolateralmente, situadas na região anterior da cabeça e possuem forma triangular; na região ventral das mandíbulas são observados três incisivos desenvolvidos para cortar e na região dorsal um molar amplo que facilita a trituração do material alimentar (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011).

A antena é do tipo genículo-capitada, apresentando flagelo composto por oito flagelômeros fundidos entre si, sendo que os quatro primeiros e o pedicelo formam o funículo e os quatro remanescentes na região distal formam uma clava ovalada, que apresenta uma série de cerdas ao longo das suturas que unem os flagelômeros. A tíbia é recoberta por cerdas e possui na região anterior uma série de seis a sete espinhos; a presença de espinhos na tíbia auxilia em atividades como a abertura das galerias nos frutos de café (CONSTANTINO et al., 2011).

As fêmeas são maiores que os machos, apresentando comprimento médio de 1,6 a 1,9 mm e asas membranosas bem desenvolvidas e funcionais. Já os machos, apresentam comprimento médio de 1,18 mm e possuem asas rudimentares, por essa razão são incapazes de voar e não saem dos frutos de onde se originaram (VEGA et al., 2009). Além disso, o macho possui um olho composto rudimentar, possivelmente associado à sua incapacidade de voo (VEGA et al., 2014).

Os olhos compostos de fêmeas apresentam em média de 115 a 127 omatídeos. Os machos, por sua vez, apresentam em média 19,1 omatídeos (CONSTANTINO et al., 2011; VEGA et al., 2014). Em geral, os machos vivem em média 40 dias, enquanto que a longevidade média das fêmeas é de 157 dias (JARAMILLO et al., 2009).

#### **1.2.1.2 Fase de ovo, larva, pré-pupa e pupa**

Os ovos são pequenos, branco-hialinos, elípticos com brilho leitoso, com dimensão média dos eixos maior e menor de 0,599 mm e 0,314 mm. As larvas apresentam cápsula cefálica larga de coloração amarelo-palha com bordos levemente recurvados, apresentando um tamanho médio de 2,12 mm quando completamente desenvolvidas. As larvas que originam fêmeas passam por dois ínstares e as que originam machos passam por apenas um. É nessa fase de desenvolvimento que ocorrem as maiores injúrias ao fruto de café decorrentes da atividade larval (BERGAMIN, 1943; GÓMEZ et al., 2015).

As pré-pupas apresentam cápsula cefálica semelhante às larvas, coloração branco-leitosa e comprimento médio de 2,05 mm para as fêmeas e de 1,4 mm para os machos. Nesse estágio observa-se formação dos primórdios da perna do inseto na medida em que este passa para a fase de pupa (BERGAMIN, 1943; GÓMEZ et al., 2015).

As pupas são do tipo exaradas, inicialmente apresentam coloração branca se tornando marrons com a formação dos apêndices externos. Na cabeça, que é encoberta pelo pronoto, notam-se livres e distintas as antenas e as peças bucais. O comprimento é variável entre os sexos, sendo em média 1,84 mm para as fêmeas e 1,35 mm para os machos. Normalmente, a pupa permanece imóvel na câmara construída no endosperma da semente, porém, quando incomodada, executa movimentos em todos os sentidos, com a parte posterior do abdômen (CONSTANTINO et al., 2011).

### **1.2.1.3 Ciclo biológico da broca-do-café**

O ciclo biológico da broca-do-café (ovo a adulto) é influenciado principalmente pela temperatura. Em temperaturas entre 23 a 27 °C, o período de incubação dos ovos é de 4,3 a 7,7 dias; o período larval ocorre entre 12 a 17 dias e a duração pupal entre 5,2 a 6,5 dias. A duração média do ciclo a 25 °C é de 26, 6 dias (JARAMILLO et al., 2009). A penetração, o desenvolvimento e a reprodução da broca só ocorrem em frutos que apresentam o teor médio de umidade de 45% (HIROSE; NEVES, 2002). Nessas condições a broca do-café pode ter até sete gerações por ano, e devido à alta longevidade e fecundidade atravessa facilmente o período de entressafra, causando danos à produção do ano seguinte.

### **1.2.1.4 Comportamento reprodutivo**

A broca-do-café se reproduz sob condições de competição local por acasalamento. Nesse sistema, os machos por serem menores em tamanho, número de indivíduos e apresentarem asas atrofiadas, geralmente são obrigados a acasalar com suas irmãs. Em espécies que apresentam essa característica, a haplodiploidia funcional é tida como o modo de determinação sexual. Porém, no caso de *H. hampei* ocorre a pseudoarrenotoquia, ou seja, tanto os machos quanto as fêmeas são diploides e se desenvolvem a partir de ovos fertilizados (BERGAMIN, 1943; CONSTANTINO et al., 2011).

A proporção sexual em uma população é de 1 macho para 10 fêmeas (BAKER et al., 1992), essa diferença na proporção, provavelmente é devido à presença da bactéria endossimbionte do gênero *Wolbachia* (VEGA et al., 2002). Essa  $\alpha$ -proteobactéria infecta as gônadas e os tecidos somáticos dos insetos, manipula a reprodução do hospedeiro através de vários mecanismos, incluindo conversão sexual, partenogênese, incompatibilidade citoplasmática e morte dos machos (VEGA et al., 2002; KAGEYAMA et al., 2012).

Os machos são os primeiros indivíduos a emergir em uma prole, os quais completam o seu desenvolvimento antes, para que as fêmeas, assim que se tornarem sexualmente maduras, sejam fecundadas. Desta forma, a função principal do macho é acasalar, podendo um único macho copular com cerca de 30 fêmeas, durante seu ciclo de vida, no interior do fruto (BERGAMIN, 1943; SILVA et al., 2014). Já foram registrados mais de 100 indivíduos (ovo, larva e adultos) em um único fruto (JARAMILLO, et al., 2009; INFANTE et al., 2018).

#### **1.2.1.5 Comportamento de abandono dos frutos**

As fêmeas, após o acasalamento, abandonam o fruto de café no qual se desenvolveram e saem à procura de novos frutos. Esse comportamento é influenciado por alguns fatores, tais como: temperatura, umidade, estágio fisiológico das fêmeas, intensidade luminosa, assim como o estado da musculatura alar e do tegumento das fêmeas (MATHEIU et al., 2001; LÓPEZ-GUILLÉN et al., 2011; SILVA et al., 2014).

O estágio fisiológico da fêmea é o fator que merece destaque no processo de abandono do fruto. Esse comportamento é observado apenas nas fêmeas acasaladas, sendo as mesmas capazes de responder de forma positiva aos voláteis emitidos pelos frutos do café. As fêmeas virgens jamais exibem esse comportamento. (MATHIEU et al., 1997; MATHIEU et al., 2001; SILVA et al., 2014).

As fêmeas quando virgens são fototrópicas negativas, após acasalamento, ocorre uma inversão do fototropismo, tornando-as fototrópicas positivas, as quais voam em busca de novos frutos (GIORDANENGO, 1992; SILVA et al., 2014). No entanto, fêmeas acasaladas que iniciam a postura no próprio fruto em que se desenvolveram, perdem o comportamento de abandono, não sendo consideradas fêmeas colonizadoras (MATHIEU et al., 1997; MATHIEU et al., 2001), uma vez que a musculatura alar das fêmeas degenera



após a oviposição, impedindo que a mesma colonize mais de um fruto (LÓPEZ-GUILLÉN et al., 2011).

As fêmeas colonizadoras quando abandonam o fruto apresentam em média 15 dias de idade, sendo capazes de voar e colocar ovos viáveis (SILVA et al., 2014). Nesse período já ocorreu a completa melanização da cutícula e da musculatura alar, pois fêmeas de 3-5 dias de idade possuem músculos alares pouco desenvolvidos, sendo incapazes de voar (LÓPEZ-GUILLÉN et al., 2011; SILVA et al., 2014).

O pico da atividade de abandono de fêmeas colonizadoras ocorre durante o período de maior intensidade luminosa do dia, entre as 14 e 16 horas, coincidindo com o período de maior atividade de voo do inseto na cultura de cafeeiro (SILVA et al., 2014).

#### **1.2.1.6 Oviposição**

Ao encontrar um fruto em condições adequadas, com 40% de umidade, a fêmea colonizadora abre um orifício, geralmente, na região da coroa do fruto, a partir do qual constrói uma galeria até atingir o interior das sementes, onde é realizada a postura (BERGAMIN, 1943). O tempo de penetração do inseto varia de acordo com o estágio de desenvolvimento do fruto, podendo levar de 5 a 11 horas (VEGA et al., 2009).

Normalmente, cada fruto é colonizado por uma única fêmea (VEGA et al., 2009). Porém, em períodos de altas infestações, pode ser visto mais de uma fêmea colonizando um mesmo fruto, cada uma com sua própria entrada (VEGA et al., 2011).

Em condições ótimas de temperatura e umidade, a fêmea produz de dois a três ovos por dia, com redução após 15 a 20 dias do início da postura. Uma fêmea põe de 31 a 119 ovos em toda sua vida em único fruto de café, no entanto, já houve relatos de até 300 ovos em um único fruto (DAMON, 2000; JARAMILLO et al., 2009).

#### **1.2.1.7 Resposta olfativa de *H. hampei* a voláteis de frutos de café**

As fêmeas colonizadoras de *H. hampei* utilizam estímulos olfativos produzidos pelos frutos de café para localização e colonização da planta hospedeira (GIORDANENGO et al., 1993; MATHIEU et al., 2001). Essa resposta varia de acordo com o estágio fenológico do inseto, e nesse caso, somente as fêmeas colonizadoras que ainda não iniciaram a postura são atraídas pelos voláteis (MATHIEU et al., 2001). Além disso, a intensidade da resposta está diretamente relacionada ao estágio fenológico do

fruto, sendo preferidos os frutos maduros em relação aos frutos verdes e secos (GIORDANENGO, 1993; PEREIRA et al., 2012).

Estudos identificaram 45 compostos voláteis emitidos por frutos de *C. arábica* e *C. canephora* var. Robusta, os quais foram divididos em cinco grupos: álcoois, cetonas/aldeídos, acetatos, terpenos e sesquiterpenos. Sendo que a maioria desses voláteis é emitida pelos frutos maduros quando comparados aos frutos verdes (GEORDANENGO et al., 1993; MATHIEU et al., 1998; MENDESIL et al., 2009).

### **1.2.2 Métodos de manejo para *Hypothenemus hampei***

#### **1.2.2.1 Controle cultural**

Consiste na realização de uma colheita correta, com repasse, ou seja, fazer a catação dos grãos que ficam retidos na planta e no solo após a colheita. A retirada dos grãos remanescentes da lavoura dificulta a sobrevivência da praga no período da entressafra, reduzindo a população na safra seguinte. A colheita deve sempre ser iniciada nos talhões mais infestados, a fim de evitar mais prejuízos, uma vez que a broca apresenta grande capacidade de reprodução. As lavouras abandonadas devem ser erradicadas, a fim de evitar que sirvam como foco de multiplicação e disseminação da praga (SOUZA et al., 2013; FERNANDES et al., 2014).

#### **1.2.2.2 Controle químico**

De modo geral, a broca-do-café, é uma praga de difícil controle, devido ao seu ciclo de vida críptico, ou seja, ocorre todo dentro do fruto. O período em que o inseto está mais vulnerável ao controle químico é no final da entressafra, quando as fêmeas acasaladas saem em busca de novos frutos (DAMON, 2000). Com isso, o sucesso no controle de *H. hampei*, depende de um monitoramento correto dos níveis de infestação no campo. A aplicação de inseticida é recomendada quando a porcentagem de infestação for de 3 a 5%, mas, a maioria dos produtores não realiza o monitoramento, o que ocasiona aplicações em excesso (SOUZA et al., 2013).

Contudo, o principal inseticida utilizado para o controle da broca-do-café, o endossulfan, foi banido em diversos países devido à toxicidade para os seres humanos e meio ambiente e ao desenvolvimento de resistência do inseto (DAMON, 2000). No Brasil, após a proibição desse inseticida, em julho de 2013, os níveis de infestação de *H.*

*hampei* aumentaram nas principais regiões produtoras (MOTA et al., 2017). Desde então, novos ingredientes ativos têm sido liberados, sendo estes, ciantraniliprole, abamectina, acetamiprido, bifentrina, metaflumizone, mas, os agricultores têm questionado a baixa eficiência e o alto custo destes produtos.

### **1.2.3 Métodos de manejo para *Hypothenemus hampei***

#### **1.2.3.1 Controle comportamental: uso de armadilhas com atraentes químicos para monitoramento e redução populacional da broca-do-café**

As fêmeas acasaladas da broca-do-café utilizam estímulos visuais e olfativos para localização e colonização dos frutos do café (GIORDANENGO et al, 1993; MATHIEU et al., 1997; MENDESIL et al., 2009). Ambos os estímulos têm um papel importante na preferência da broca-do-café por frutos maduros (vermelhos) ou imaturos (verdes) (GIORDANENGO et al, 1993; MATHIEU et al., 1997; SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008). Visando o monitoramento e possível controle da broca-do-café, diversos modelos de armadilhas vêm sendo desenvolvidos e testados em vários países produtores de café, como FUNIL MÚLTIPLO na França (MATHIEU et al., 1997), BROCAP em El Salvador e Hawaí (DUFOUR; FRÉROT, 2008; MESSING, 2012), IAPAR no Brasil (SILVA et al., 2006; UEMURA-LIMA et al., 2010; FERNANDES et al., 2015), e FIESTA na Colômbia (ARISTIZÁBAL et al., 2015). Geralmente essas armadilhas são pintadas em diferentes cores e possuem voláteis à base de álcoois atrativos à broca-do-café (MATHIEU et al., 1997; SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008). As armadilhas coloridas em vermelho estão entre as mais atrativas para broca-do-café (MATHIEU et al., 1997; DUFOUR; FRÉROT, 2008), no entanto, armadilhas verdes transparentes mostram-se mais eficazes (SILVA et al., 2006). Com relação à atração pelos voláteis, geralmente a mistura etanol: metanol, na proporção 1: 3 é a mais efetiva na captura da broca-do-café (MATHIEU et al., 1997), entretanto, melhores capturas foram registradas nas proporções 1:1 (SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008).

#### **1.2.3.2 Compostos voláteis como possíveis atrativos a broca-do-café**

O composto mais utilizado em mistura com o etanol em armadilhas para captura da broca-do-café é o metanol, mas este produto apresenta alta toxicidade aos seres humanos e ao homem, o que pode acarretar na proibição do seu uso em armadilhas como atrativos. Diante disso, é de suma importância a busca por novas alternativas que possam

substituir esse atrativo no monitoramento da broca. Dentre os possíveis atrativos com potencial para serem usados, destacam-se: os óleos essenciais e álcoois, como, por exemplo, cinamaldeído, eugenol, geraniol, citral, acetato de etila entre outros. A capacidade atrativa desses compostos voláteis, tem sido observada em algumas espécies de insetos, como o cinamaldeído na atratividade do coleóptero, *Bruchus rufimanus* (BRUCE et al. 2011), e o eugenol, citral e geraniol atrativos para as abelhas *Apis mellifera* (MALERBO-SOUZA et al., 2003)

Uma das vantagens dos óleos essenciais é que grande parte dos compostos ativos das plantas está presente no próprio óleo. Além disso, possuem um princípio ativo, que corresponde ao composto presente em maior quantidade no óleo (KAMEL, 2000).

### **1.2.3.3 Controle biológico: fungo entomopatígeno *Beauveria bassiana***

Os fungos são patógenos de amplo espectro, capazes de colonizar diversas espécies de insetos, causando com frequência, epizootias em condições naturais. Esses patógenos também diferem de outros grupos por terem a capacidade de infectar todos os estágios de desenvolvimento dos hospedeiros. Os fungos penetram por diversas vias, predominantemente através do tegumento e possuem alta capacidade de disseminação horizontal (ALVES et al., 2008).

Após a infecção, o fungo *Beauveria bassiana* germina em um período de 12 a 18 horas, dependendo de condições favoráveis de umidade, temperatura, pH, oxigênio e nutrição. Após 72 horas da inoculação, o inseto apresenta-se totalmente colonizado. O ataque no tecido gorduroso, intestinal e demais tecidos, resulta na morte do inseto, devido à falta de nutrientes e do acúmulo de substâncias tóxicas. Observam-se sobre o corpo do inseto colonizado esporos esbranquiçados, os quais poderão disseminar e contaminar outros indivíduos (ALVES et al., 2008).

Este entomopatígeno, ocorre naturalmente, com níveis de infecção ao inseto que variam de 1 a 70% em diversos países produtores de café como, Brasil (COSTA et al., 2002), Colômbia (POSADA-FLÓREZ et al., 2008), Nicarágua (MONZÓN et al., 2008), Porto Rico (GALLARDO-COVAS et al., 2010) e Camarões (MBANG et al., 2012). Na maioria dos casos, as mortalidades foram atribuídas a condições ambientais altamente favoráveis (durante estações chuvosas ou períodos prolongados de alta umidade). As condições ambientais mais favoráveis à atividade do fungo *Beauveria bassiana* em geral

são temperatura moderada, alta umidade e baixa insolação (ZIMMERMANN, 2007; WRAIGHT et al., 2018).

Diversos estudos relataram a patogenicidade de diferentes isolados do fungo *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei* em condições laboratoriais e de campo (SAMUELS et al., 2002; NEVES; HIROSE, 2005; CRUZ et al., 2006; VERA et al., 2011; DALVI et al., 2011). No entanto, apenas o isolado ESALQ-PL63 é comercialmente registrado para o controle de *H. hampei* no Brasil (MOTA et al., 2017).

Apesar de esse agente microbiano desempenhar um importante papel no controle de *H. hampei*, a sua virulência está condicionada a fatores ambientais, como radiação ultravioleta, temperatura, umidade, concentração, correta aplicação, entre outros (ARISTIZÁBAL et al., 2016). As condições ideais para seu desenvolvimento de umidade de aproximadamente 80% são temperatura entre 23 e 29 °C e tempo nublado (ALVES et al., 2008). Para melhorar a eficiência do fungo *Beauveria bassiana* em condições de campo, uma alternativa interessante é a utilização de emulsificantes associados ao fungo, para protegê-lo contra radiação UV, temperaturas elevadas e melhorar a eficiência de aplicação. Alguns emulsificantes têm sido testados em associação com a *Beauveria*, como, por exemplo, a mistura de óleo de mamona em 2% com o formulado Boveril<sup>®</sup> na concentração de  $3 \times 10^5$  conídios/mL, a mortalidade de larvas de *Plutella Xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), foi significativamente maior comparado à utilização do fungo somente (RONDELLI et al., 2011).

Dentre os emulsificantes, a goma arábica tem se destacado em estudos com encapsulamento (YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, et al., 2008). A goma é um polímero que consiste primariamente de ácido D-glucurônico, L-raminose, D-galactose, e L-arabinose, com aproximadamente 5% de proteína, sendo esta fração de proteína responsável pela propriedade de emulsificação da goma, o que a torna adequada para proteção dos microrganismos contra fatores ambientais adversos (SHAHIDI; HAN, 1993).

### 1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.69-110.

ARISTIZÁBAL, L.F.; JIMÉNEZ, M.; BUSTILLO, A.E.; TRUJILLO, H.I.; ARTHURS, S.P. Monitoring coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), populations with alcohol- baited funnel traps in coffee farms in Colombia. **Florida Entomologist**, v.98, n.1, p.381-383, 2015.

ARISTIZÁBAL, L.F.; BUSTILLO, A.E.; ARTHURS, S.P. Integrated Pest Management of Coffee Berry Borer: Strategies from Latin America that Could Be Useful for Coffee Farmers in Hawaii. **Insects**, Basel, v.7, p.1-24, 2016.

BAKER, P.S.; BARRERA, J.F.; RIVAS, A. Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. **Journal of Applied Ecology**, v.29, n.3, p.656-662, 1992.

BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col. Ipidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.14, p.31-72, 1943.

BRUCE, T.J.; MARTIN, J.L.; SMART, L.E.; PICKETT, J.A. Development of semiochemical attractants for monitoring bean seed beetle, *Bruchus rufimanus*. **Pest Management Science**, v.67, p.1303-1308, 2011.

BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D.M. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v.82, n.5, p.1311-1316, 1989.

CONSTANTINO, L.M.; NAVARRO, L.; BERRIO, A.; ACEVEDO, F.R.; RUBIO, D.; BENAVIDES, P. Aspectos biológicos, morfológicos y genéticos de *Hypothenemus*

*obscurus* e *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v.37, n.2, p.173-182, 2011.

COSTA, J.N.M.; SILVA, R.B.; RIBEIRO, P.A.; Garcia, A. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. em broca-do-café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari) no estado de Rondônia, Brasil. **Acta Amazonica**, v.32, p.517-519, 2002.

CRUZ, L. P.; GAITAN, A.L.; GONGORA, C.E. Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.71, n. 6, p.918-926, 2006.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.90, p. 453-465, 2000.

DALVI, L.P.; PRATISSOLI, D.; POLANCZY, R.A.; ANDRADE, G.S. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) for the control of the coffee borer beetle *Hypothenemus hampei* (Scolytinae) in Brazil. **Biological Letters**, v.48, n.1, p.39-46, 2011.

DUFOUR, B.P.; FRÉROT, B. Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col., Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. **Journal of Applied Entomology**, v.132, n.7, p.591- 600, 2008.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, R.S.; SILVA, I.W.; FERNANDES, M.E.S.; RIBEIRO, L.H. Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.8, p.587-594, 2014.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; FERNANDES, M.E.S.; DÂNGELO, R.A.C.; SOUZA, F.F.; GUEDES, R.N.C. A new and highly effective sampling plan using attractant-baited traps for the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). **Journal of Pest Science**, v.88, n.2, p.289-299, 2015.

GALLARDO-COVAS, F., HERNANDEZ, E., PAGAN, J. Presencia natural del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en la broca del fruto del café *Hypothenemus hampei*

(Ferrari) en Puerto Rico. **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v.94, p.195-198, 2010.

GIORDANENGO, P.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, v.19, n.4, p.763-769, 1993.

GÓMEZ, J.; CHÁVEZ, B.Y.; CASTILLO, A.; VALLE, F.J.; VEGA, F.E. The coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae): how many instars are there? **Annals of the Entomological Society of America**, v.108, n.3, p.311-315, 2015.

HIROSE, E.; NEVES, P.M. O.J. Técnica para criação e manutenção da broca-do- café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), em laboratório. **Neotropical Entomology**, v.31, n.1, p.161-164, 2002.

HUANG, B.; YUAN, H.D.; KIM, Y.; QUAN, H.Y.; CHUNG, S.H. Cinnamaldehyde prevents adipocyte differentiation and adipogenesis via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.59, n.8, p.3666-3673, 2011.

INFANTE, F., PÉREZ, J.; VEGA, F.E. Redirect research to control coffee pest. **Nature**, v.489, n.7417, p.502-502, 2012.

INFANTE, F.; PÉREZ, J.; VEGA, F.E. The coffee berry borer: the centenary of a biological invasion in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, p.125-126, 2014.

INFANTE, F. Pest Management Strategies Against the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.66, n.21, p.5275-5280, 2018.

JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P.S. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. **Bulletin of Entomological Research**, v.96, p.223-233, 2006.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; KAMONJO, C.; JARAMILLO, A.; VEGA, F.E.; POEHLONG, H.M.; BORGEMEISTER, C. Thermal tolerance of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*: predications of climate change impact on a tropical insect pest. **Plos One**, v.4, n.8, p.1-11, 2009.



- KAGEYAMA, D., NARITA, S., WATANABE, M. insect sex determination manipulated by endosymbionts: incidences, mechanisms and implications. **Insects**, v.3, p.161-199, 2012.
- LÓPEZ-GUILLÉN, G.; CARRASCO, J.V.; CRUZ-LÓPEZ, L.; BARRERA, J.F.; MALO, E.A.; ROJAS, J.C. Morphology and structural changes in flight muscles of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) females. **Environmental Entomology**, v.40, n.2, p.441-448, 2011.
- LÓPEZ-MATA, M.A.; RUIZ-CRUZ, S.; de JESÚS ORNELAS-PAZ, J.; DEL TORO-SÁNCHEZ, C.L.; MÁRQUEZ-RÍOS, E.; SILVA-BELTRÁN, N.P.; CIRACHÁVEZ, L.A.; BURRUEL-IBARRA, S.E. Mechanical, barrier and antioxidant properties of chitosan films incorporating cinnamaldehyde. **Journal of Polymers Environment**, v.26, n.2, p.452-461, 2017.
- MALERBO-SOUZA, D.T.; ANDRÉ CHARLIER, A.; ROSSI, M.M.; PINTO, A.S.; NOGUEIRA-COUTO, R.H. Métodos para atrair e repelir a abelha *Apis mellifera* (L.) em cultura de maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa flavicarpa* Deg.). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.25, n.1, p.1-8, 2003.
- MATHIEU, F.; BRUN, L. O.; FRÉROT, B. Factors related to native host abandonment by the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Col., Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, v.121, n.3, p.175-180, 1997.
- MATHIEU, F.; GAUDICHON, V.; BRUN, L. O.; FRÉROT, B. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. **Physiological Entomology**, v.26, n.3, p.189-193, 2001.
- MBANG, J.A.A.; MOUNJOUENPOU, P.; MAHOB, R.J.; MBARGA AMOUGOU, M.; MOUEN BEDIMO, J.; NYASSE, S. Evaluation naturelle de l'impact de *Beauveria bassiana*: champignon entomopathogène dans la dynamique de population de *Hypothenemus hampei*, scolyte de baies des cerises de *Coffea canefora* [sic]. **African Crops Science Journal**, v.20, n.2, p.443-451, 2012.
- MENDESIL, E.; BRUCE, T.J.A.; WOODCOCK, C.M.; CAULFIELD, J.C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J.A. Semiochemicals used in host location by coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v.35, n.8, p.944-950, 2009.

MESSING, R.H. The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) invades Hawaii: Preliminary investigations of traps response and alternate hosts. **Insects**, v.3, p.640-652, 2012.

MONZÓN, A.J., GUHARAY, F., KLINGEN, I. Natural occurrence of *Beauveria bassiana* in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) populations in unsprayed coffee fields. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.97, n.2, p.134–141, 2008.

MOTA, L.H.C., SILVA, W.D., SERMARINI, R.A., DEMÉTRIO, C.G.B., BENTO, J.M.S., DELALIBERA, I.JR. Autoinoculation trap for management of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) with *Beauveria bassiana* (Bals.) in coffee crops, **Biological Control**, v.111, p.32-39, 2017.

OLIVEIRA, C.M.; AUAD, A.M.; MENDES, S.M.; FRIZZAS, M.R. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, v.137, n.1-2, p.1-15, 2013.

PEREIRA, A.E.; VILELA, E.F.; TINOCO, R.S.; LIMA, J.O.; FANTINE, A.K.; MORAIS, E. G.F.; FRANÇA, C.F.M. Correlation between numbers captured and infestation levels of the Coffee Berry-borer, *Hypothenemus hampei*: A preliminary basis for na action threshold using baited traps. **International Journal of Pest Management**, v.58, n.2, p.183-190, 2012.

POSADA-FLÓREZ, F. J. Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. **Journal of Insect Science**, v.8, n.41, p.1-13, 2008.

RONDELLI, V.M.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MARQUES, E.J.; STURM, G.M.; TIBURCIO, M.O. Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no controle da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.2, p.212-214, 2011.

SAMUELS, R.I.; PEREIRA, R.C.; GAVA, C.A. T. Infection of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by Brazilian isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*

(Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biocontrol Science and Technology**, v.12, n.5, p.631-635, 2002.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.33, n.6, p.501-47, 1993.

SILVA, F.C.; VENTURA, M.U.; MORALES, L. Capture of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in response to trap characteristics. **Scientia Agricola**, v.63, p.567-571, 2006.

SILVA, W.D.; COSTA, C.M.; BENTO, J.M.S. How old are colonizing *Hypothenemus hampei* (Ferrari) females when they leave the native coffee fruit? **Journal of Insect Behavior**, v.27, n.6, p.729-735, 2014.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; SILVA, R.A.; CARVALHO, T.A.F.; PEREIRA, A.B. Controle químico da broca-do-café com cyantraniliprole. **Coffee Science**, v.8, n.4, p.404-410, 2013.

UEMURA-LIMA, D.H.; VENTURA, M.U.; MIKAMI, A.Y.; SILVA, F.C. da; MORALES, L. Responses of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Scolytidae),to vertical distribution of methanol: ethanol traps. **Neotropical Entomology**, v.39, p.930-933, 2010.

VEGA, F.E.; BENAVIDES, P.; STUART, J.A.; O'NEILL, S.L. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.95, n.3, p.374-378, 2002.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v.2, n.2, p.129-147, 2009.

VEGA, F.E., KRAMER, M., JARAMILLO, J. Increasing coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*; Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) female density in artificial diet decreases fecundity. **Journal of Economic Entomology**, v.104, p.87-93, 2011.

VEGA, F.E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; KRAMER, M.; LAND, M.F. On the eyes of male coffee berry borers as rudimentary organs. **Plos One**, v.9, n.1, 2014.

VERA, J.T.; MONTOYA, E.C.; BENAVIDES, P.; GÓNGORA, C.E. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as a control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) emerging from fallen, infested coffee berries on the ground. **Biocontrol Science and Technology**, v.21, n.1, p.1-14, 2011.

WRAIGHT, S.P.; GALAINI-WRAIGHT, S.; HOWES, R.L.; CASTRILLO, L.A.; CARRUTHERS, R.I.; SMITH, R.H.; MATSUMOTO, T.K.; KEITH, L.M. Prevalence of naturally-occurring strains of *Beauveria bassiana* in populations of coffee berry borer *Hypothenemus hampei* on Hawai‘i Island, with observations on coffee plant-*H. hampei*-*B. bassiana* interactions. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.156, p.54-72, 2018.

YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J.; RAMOS-RAMÍREZ, E.; SALAZAR-MONTOYA, J. Rheological characterization of dispersions and emulsions used in the preparation of microcapsules obtained by interfacial polymerization containing *Lactobacillus* Sp. **European Food Research And Technology**, v.226, n.5, p.957-966, 2008.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v.17, p-553-596, 2007.

## 2 CAPÍTULO II

### **RESPOSTA DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) A ESTÍMULOS OLFATIVOS E VISUAIS EM CAMPO**

#### **RESUMO**

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) é uma das principais pragas da cafeicultura mundial. Visando o monitoramento e possível redução populacional do inseto, diversas armadilhas coloridas contendo diferentes atrativos têm sido desenvolvidas para captura do mesmo. Entretanto, os estudos têm apresentado resultados variáveis e por vezes contraditórios em relação às cores e às proporções das misturas utilizadas. Deste modo, o objetivo deste estudo foi determinar a melhor associação entre proporções etanol: metanol e cores das armadilhas, identificar as mais eficazes no monitoramento e possível controle da broca-do-café em campo; e ainda determinar a época de maior trânsito do inseto no cafezal. Utilizou-se armadilhas confeccionadas com garrafas PET 2 L, as quais foram pintadas com tinta a óleo vermelha, verde e vermelha+verde, esta última com cada cor em uma metade da garrafa. Foram usadas seis misturas voláteis. As misturas referência consistiram em etanol:metanol (E:M), nas proporções de 1:1 e 1:3, com adição de 2 e 4 g do pó de cafeína pura. Foram adicionados também nas duas proporções o benzaldeído (B) a 0,5%, e o ácido benzoico (AB) em 1%. Nesse mesmo período, determinou-se a porcentagem de infestação nos frutos. Foi coletada ao acaso uma amostra de trezentos frutos por talhão, os frutos foram retirados no terço médio de cada planta em um total de 30 plantas. Todas as misturas atrativas e cores das armadilhas capturaram a broca-do-café. Em todos os estádios fenológicos do fruto, constatou-se a presença da *H. hampei*.

Palavras-chave: Monitoramento; semioquímicos; atrativo volátil.

**RESPONSE OF COFFEE BERRY BORER, *Hypothenemus hampei* FERRARI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) to OLMPITIVE AND VISUAL STIMES IN FIELD**

**ABSTRACT**

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) is one of the main plagues of coffee. Aiming at the monitoring and possible population reduction of the borer, several colored traps containing different attractives have been developed to capture this insect. However, the studies have presented variable and sometimes contradictory results in relation to the colors and proportions of the mixtures used. Thus, the objective of this study was to determine the best association between proportions ethanol: methanol and colors of the traps, identify the most effective in monitoring and possible control of coffee berry borer in the field; and to determine the time of greatest transit of the insect in the coffee plantation. Traps made with bottles PET 2 L were used, which were painted with oil paint red, green and red + green, the latter with each color in one half of the bottle. Six volatile mixtures were used. The reference mixtures consisted of ethanol (E) and methanol (M), in the proportions of 1:1 and 1:3, with addition of 2 and 4 g of pure caffeine powder. Also in two proportions were added benzaldehyde (B) and 0.5%, and benzoic acid (BA) to 1%. In this period, the percentage of infestation in fruits was determined. A sample of three hundred fruits per plot was randomly collected. The fruits were removed in the middle third of each plant in a total of 30 plants. All the attractive mixtures and colors of the traps captured the coffee berry borer. In all the phenological stages of the fruit, it was verified the presence of *H. hampei*.

Keywords: Monitoring; semiochemicals; Attractive

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os insetos comunicam-se através de estímulos físicos, químicos e visuais. Insetos fitófagos utilizam uma combinação de estímulos visuais e químicos para localizar suas plantas hospedeiras (BERNAYS; CHAPMAN, 1994). Já um grande número de insetos consegue identificar visualmente a forma e a cor do hospedeiro, enxergando as cores verde, ultravioleta e azul (BRISCOE; CHITTKA, 2001).

Em alguns escolitíneos, os estímulos visuais e olfativos têm sido utilizados com sucesso no monitoramento, como, por exemplo, em *Dendroctonus frontalis* (Zimmermann, 1868), *Ips typographus* (Linnaeus, 1758) e *D. valens* (Leconte, 1860) (STROM et al., 2001; SHOU-AN; SHU-JIE, 2013; KELSEY; WESTLIND, 2017). Os besouros usam uma combinação de feromônios do hospedeiro e de agregação para localizá-los (ZHANG; SCHLYTER, 2004). Esses estímulos têm sido estudados para o conhecimento de como os mesmos interferem no comportamento dos insetos e com isso utilizá-los no manejo de algumas pragas.

No caso da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), que é a praga mais importante da cafeicultura mundial, esses estímulos têm sido estudados como forma de auxiliar no seu monitoramento, visto que essa praga vem causando perdas quantitativas e qualitativas na produção de café arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*C. canephora* Pierre ex A. Froehner) (DUFOUR; FRÉROT, 2008; FERNANDES et al., 2015; ARISTIZÁBAL et al., 2015). Somente no Brasil, maior produtor mundial de café, as perdas anuais ultrapassam 300 milhões de dólares (OLIVEIRA et al., 2013; MOTA et al., 2017).

Visando o monitoramento e possível controle da broca-do-café, diversos modelos de armadilhas vêm sendo desenvolvidos e testados em vários países produtores de café, FUNIL MÚLTIPLO na França (MATHIEU et al., 1997), BROCAP em El Salvador e Hawaii (DUFOUR; FRÉROT, 2008; MESSING, 2012), respectivamente, IAPAR no Brasil (SILVA et al., 2006; UEMURA-LIMA et al., 2010; FERNANDES et al., 2015), e FIESTA na Colômbia (ARISTIZÁBAL et al., 2015). Geralmente essas armadilhas são pintadas em diferentes cores e possuem voláteis à base de álcoois atrativos à broca-do-café (MATHIEU et al., 1997; SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008). As armadilhas com coloração vermelha têm se destacado na atratividade da broca-do-café (MATHIEU et al., 1997; DUFOUR; FRÉROT, 2008), no entanto, maiores capturas foram

relatadas em armadilhas verdes transparentes (SILVA et al., 2006). Com relação à atratividade pelos compostos voláteis etanol: metanol, a mistura destes compostos na proporção 1: 3 tem se mostrado mais efetiva na captura da broca-do-café (MATHIEU et al., 1997), entretanto, melhores capturas foram registradas nas proporções 1:1 (SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008).

Estudos em laboratórios e campo mostraram que as fêmeas colonizadoras de *H. hampei* também utilizam estímulos visuais e olfativos para localização e colonização dos frutos do café (GIORDANENGO et al, 1993; MATHIEU et al., 1997; MENDESIL et al., 2009). Ambos os estímulos têm um papel importante na preferência da broca-do-café por frutos maduros (vermelhos) ou imaturos (verdes) (GIORDANENGO et al, 1993; MATHIEU et al., 1997; SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008). Os estímulos olfativos utilizados pela broca-do-café para localizar a planta, são principalmente os semioquímicos liberados por frutos de café em diferentes estádios de maturação (GIORDANENGO et al., 1993; MATHIEU et al., 2001; MENDESIL et al., 2009; CRUZ et al., 2013). No que diz respeito ao olfato, geralmente os frutos vermelhos são mais atraentes do que os frutos verdes (GIORDANENGO et al., 1993).

Estudos têm sido realizados com diferentes tipos de cores de armadilhas e proporções de álcoois para atrair adultos da broca-do-café (MATHIEU et al., 1997; SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008). Entretanto, são poucos estudos que associam cores de armadilhas e voláteis atrativos em um mesmo trabalho. Além disso, há muitas divergências em estudos de atratividade da broca-do-café às cores das armadilhas e proporções da mistura metanol e etanol (MATHIEU et al., 1997; SILVA et al., 2006; DUFOUR; FRÉROT, 2008). Estudos que associem estímulos visuais e olfativos podem ser fundamentais na compreensão das respostas comportamentais do inseto na localização da planta. A discriminação das cores associadas com estímulos olfativos é essencial na escolha do fruto de café pelo inseto (MATHIEU et al., 2001). Além disso, a identificação da época de maior pico do inseto no cafezal pode ajudar os agricultores na tomada de decisão (ARISTIZÁBAL et al., 2012). Desse modo, o presente trabalho teve por objetivo determinar a associação entre proporções etanol: metanol e cores das armadilhas, identificar as mais eficazes no monitoramento e possível controle da broca-do-café em campo; e ainda determinar a época de maior trânsito do inseto no cafezal.



## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma lavoura de *Coffea arabica* cultivar ‘Catuaí vermelho’ com alta infestação de broca, localizada no distrito de Celina, município de Alegre, (latitude 20° 45’ 50,28’’ S e longitude 41° 35’ 30,72’’ W), Espírito Santo, altitude de 700 m ao nível do mar, com sete anos de idade, espaçamento 1,70 x 2,70 m, no período de Novembro/2016 até Julho/2017.

### 2.2.1 Captura da broca-do-café nas armadilhas

Foram utilizadas armadilhas confeccionadas com garrafas PET 2 L, com abertura lateral retangular (20 x 15 cm), por apresentarem baixo custo (FERNANDES et al., 2015). As garrafas foram pintadas com tinta a óleo vermelha, verde e vermelha+verde, esta última com cada cor em uma metade da garrafa (Fig. 1). As armadilhas foram acopladas a estacas de bambu a 1,5 m de altura do solo como descrito por SILVA et al (2006) e UEMURA-LIMA et al (2010), com arame galvanizado número 12. Na parte interna de cada armadilha foi fixado com barbante um frasco de plástico transparente de 12 mL contendo os compostos químicos. O frasco foi vedado com tampa plástica de rosca, com um orifício de 2 mm de diâmetro no centro, para liberação do atrativo. No fundo da armadilha foram adicionados 120 mL de água com 5% de detergente neutro para captura dos adultos da broca-do-café.

Foram usadas seis misturas voláteis. As misturas referência utilizadas em todos os ensaios consistiram em etanol (99,9% de pureza) e metanol (100% de pureza). O volume de cada mistura foi de 12 mL, nas proporções de 1:1 e 1:3, com adição de 2 e 4 g do pó de café. Foram adicionados também nas duas proporções o benzaldeído (99,5% de pureza) em 0,5% (B) e o ácido benzoico (99,9 % de pureza) em 1% (AB). As soluções foram preparadas no Núcleo de Desenvolvimento Tecnológico e Científico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI).

A abertura da armadilha foi posicionada para o centro da entre linha do café, para possibilitar que a pluma odorífera do atrativo se dispersasse entre as fileiras (FERNANDES et al., 2014). Foram distribuídas 108 armadilhas em uma área de 80000 m<sup>2</sup>, com espaçamento de 15 m entre as mesmas, o que resultou em uma densidade média de 14 armadilhas por hectare. Cada ponto amostral foi previamente georreferenciado.



Figura 1. Armadilhas confeccionadas com garrafas PET de 2 L pintadas de vermelho, verde e colorida (vermelho+verde) com a mistura atrativa etanol:metanol na proporção 1:1 e 1:3 com pó de café, benzaldeído (0,5%) e ácido benzoico (1%) contidos em um frasco de plástico (Foto: Arquivo pessoal).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados em fatorial duplo (3 x 6) com 6 repetições cada, com as cores: vermelho, verde e colorida (vermelho+verde) e seis misturas dos compostos voláteis (etanol:metanol + pó de café + benzaldeído + ácido benzoico) nas proporções:

- a) E:M (1:1) + 2g de pó de café;
- b) E:M (1:1) + 2g de pó de café + benzaldeído (0,5%);
- c) E:M (1:1) + 2g de pó de café + ácido benzoico (1%);
- d) E:M (1:3) + 4g de pó de café;
- e) E:M (1:3) + 4g de pó de café + benzaldeído (0,5%);
- f) E:M (1:3) + 4g de pó de café + ácido benzoico (1%).

Os dados experimentais foram coletados na safra 2016/2017, nos seguintes estádios fenológicos do cafeeiro: chumbinho, expansão, granação, maturação e entressafra (CAMARGO; CAMARGO, 2001).

A cada quinze dias os insetos foram coletados das armadilhas e levados ao laboratório para posterior identificação e contagem das brocas.

### **2.2.2 Incidência da broca-do-café na lavoura**

Determinou-se a incidência da broca-do-café na lavoura, nos estádios de chumbinho, expansão, granação, maturação. Foi coletada ao acaso uma amostra de trezentos frutos por talhão, os frutos foram retirados no terço médio de cada planta em um total de 30 plantas. Após a coleta os frutos foram levados ao laboratório para contagem dos frutos broqueados, conforme descrito por SOUZA et al., 2013.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5% no *software* estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009).

Para coleta dos dados de precipitação (mm) e temperatura (°C) foi instalada uma estação meteorológica na área em que o experimento foi conduzido.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo apresentaram interação entre os fatores cor e atrativo sobre o número de adultos da broca-do-café capturados ( $F_{107:85} = 2,46$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 1).

Todos os atrativos avaliados capturaram adultos da broca-do-café. No entanto, não houve diferença estatística entre os atrativos em quase todas as cores, exceto na coloração vermelha, em que a mistura etanol: metanol+ácido benzoico na proporção 1:1+AB capturou 616 brocas, diferindo estatisticamente das misturas etanol: metanol+ácido benzoico na proporção 1:3+AB e etanol: metanol na proporção 1:3, as quais capturaram 284 e 165, 50 brocas, respectivamente ( $F_{107:85} = 3,42$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 1).

Todas as cores avaliadas capturaram adultos da broca-do-café. Entretanto, não houve diferença estatística entre as cores em quase todos os atrativos, exceto na mistura etanol: metanol+ácido benzoico na proporção 1:1+AB, em que a cor vermelha capturou 616 brocas, diferindo estatisticamente da colorida com 261, 33 brocas capturadas ( $F_{107:85} = 2,78$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 1).

Em relação à incidência da broca-do-café na lavoura, os maiores picos ocorreram nos estádios de granação (janeiro) e maturação (abril), ambos com 25% de infestação (Figura 2). Já na captura em armadilhas constatou-se maiores picos nos estádios de chumbinho (novembro), expansão (dezembro), granação (janeiro), maturação (abril) e entressafra (julho), com 1800, 2790, 2200 e 1739 e 1200 brocas, respectivamente (Figura 2).

Tabela 1. Adultos de *Hypothenemus hampei* capturados em armadilhas em diferentes cores e atrativos.

Atrativo	Cor			Média
	Vermelha	Verde	Colorida	
1:1	440,83±30,53ABa	246,33±20,25Aa	414,33±25,33Aa	367,16±25,33
1:1 +B	420,83±25,22ABCa	338,50±23,25Aa	420,83±26,85Aa	393,38±25,10
1:1 +AB	616,00±41,77Aa	455,16±39,49Aab	261,33±18,25Ab	444,16±33,17
1:3	165,50±17,18Ca	212,83±17,97Aa	381,83±22,25Aa	253,38±19,13
1:3+B	368,33±23,28ABCa	264,50±21,20Aa	258,17±18,66Aa	297±21,04
1:3 +AB	284,00±23,05BCa	244,67±16,22Aa	379,33±24,77Aa	302,66±21,34
Média	382,58±26,83	293,66±23,06	352,63±22,68	

\*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem

entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

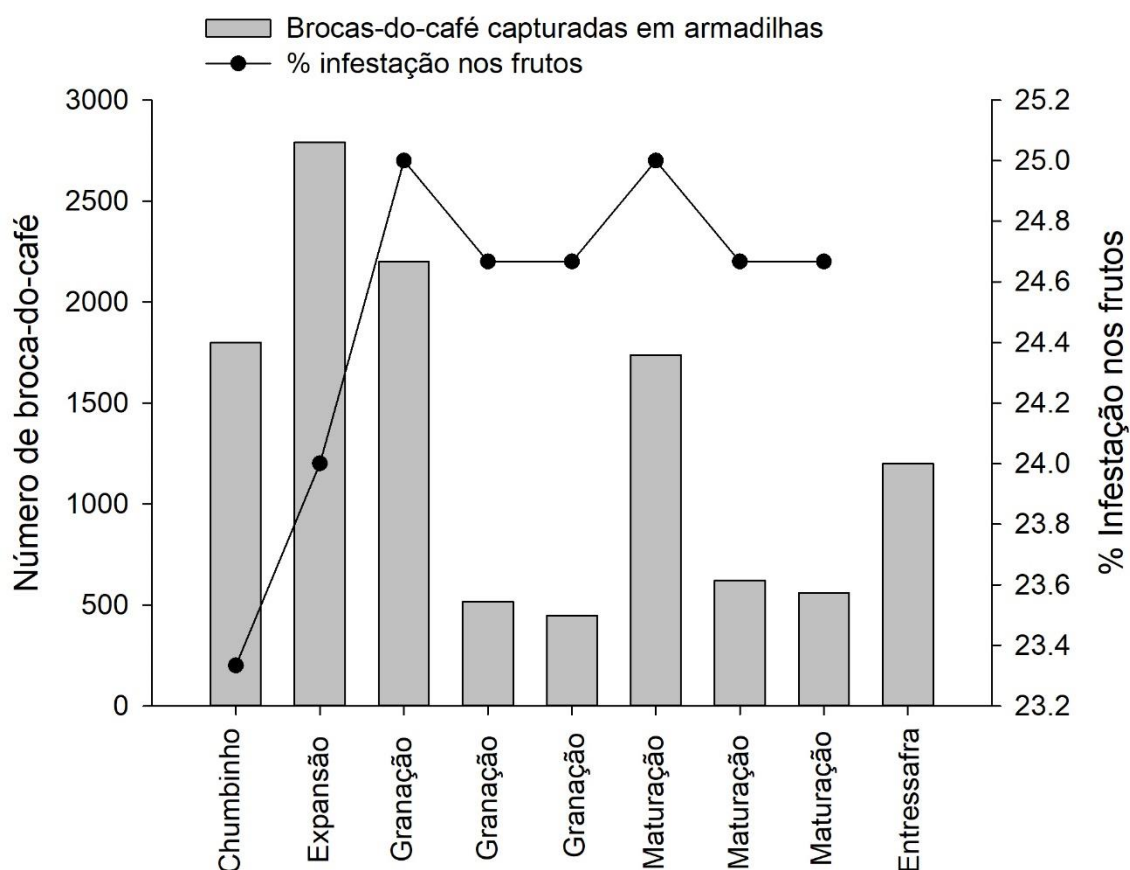


Figura 2. Número de adultos de *Hypothenemus hampei*, capturados em armadilhas por mês e correspondente infestação nos frutos (%) nos estádios fenológicos de chumbinho (nov), expansão (dez), granação (jan/fev/mar), maturação (abr/mai/jun) e entressafra (jul/ago/set) do cafeeiro (*Coffea arabica*), em Alegre, ES, safra 2016/2017.

As melhores taxas de captura da broca-do-café na proporção 1:1+AB na armadilha vermelha sugerem que a adição do ácido benzoico em 1% na mistura 1:1, prolongou o efeito do aroma desses álcoois, retardando a volatilização dos mesmos, o que potencializou a atratividade dessa mistura. Na indústria de perfumarias o ácido benzoico é usado na maioria dos perfumes como fixador artificial com a função de prolongar o efeito do aroma e retardar a evaporação da essência (CASTELLAN, 1986). A adição de ácido benzoico em 1% na mistura Etanol:Metanol já foi testada por Fernandes et al (2011; 2015), no entanto, apenas na proporção 1:3, além disso, os autores não compararam a eficiência das misturas na captura da broca-do-café.

No que diz respeito a melhor proporção das misturas E:M, a proporção 1:1 apresentou melhores capturas em relação a 1:3 na armadilha vermelha, nas demais cores não houve diferença estatística, nesse caso, é mais viável ao produtor a utilização da proporção 1:1, uma vez que o metanol custa cerca de 75% a mais que o etanol (SILVA et al., 2006).

Nos resultados sobre as cores das armadilhas, verificou-se melhores taxas de capturas em armadilhas nas cores vermelhas com atrativo Etanol:Metanol+ácido benzoico na proporção 1:1+AB. Essa preferência pela cor vermelha pode estar relacionada ao fato das cores das armadilhas simularem os estádios de desenvolvimento dos frutos, confirmando a resposta do inseto, o qual responde aos diferentes estágios de amadurecimento do fruto, com certa preferência por frutos maduros (GIORDANENGO et al., 1993). Além disso, a capacidade visual da broca está relacionada ao fato da cor vermelha ser assimilada como preta (MATHIEU et al., 1997). As fêmeas colonizadoras de *H. hampei* se orientam em direção a uma massa escura e a uma fonte de odor atraente, o que corresponde aos estímulos olfativos e visuais para reconhecimento do hospedeiro (MATHIEU et al., 1997).

Essa maior atração da broca pela cor vermelha assemelha-se aos resultados obtidos em outros estudos (MATHIEU et al. 1997; DUFOUR; FRÉROT, 2008). No entanto, diferem dos resultados encontrados por SILVA et al (2006), os quais recomendam a utilização da armadilha verde-transparente no monitoramento da broca.

A maioria dos insetos tem algum grau de visão de cores funcionais. Em besouros, isso é frequentemente encontrado para ser tricromático ou mesmo tetracromático (baseado em três ou quatro tipos de fotorreceptores diferentes), levando a uma boa discriminação de cores do UV para as partes laranja / vermelho do espectro (BRISCOE;

CHITTKA, 2001). No caso da broca-do-café, as fêmeas apresentam alta capacidade visual, devido ao desenvolvimento dos olhos compostos, o que facilita na identificação das cores (VEGA et al., 2015).

Nos resultados sobre os picos na incidência da broca-do-café na lavoura, constatou-se maiores infestações nos estádios de granação (janeiro) e maturação (abril). Entretanto, nas armadilhas, constatou-se maiores capturas nos estádios de chumbinho (novembro), expansão (dezembro), granação (janeiro), maturação (abril) e entressafra (julho). Estes resultados mostram que a broca-do-café apresenta vários picos no decorrer dos estádios fenológicos da cultura, dentre estes, na fase de chumbinho. O pico neste estágio, provavelmente está relacionado ao comportamento do inseto, uma vez que noventa dias após a grande florada, a qual ocorre no mês de setembro nessa lavoura, as fêmeas acasaladas da broca-do-café abandonam os frutos remanescentes da safra anterior e voam à procura de frutos novos (DAMON, 2000). No estágio de chumbinho, geralmente as sementes apresentam um teor de matéria seca menor que 20%, nesse caso, a broca-do-café abandona o fruto após a perfuração inicial (JARAMILLO et al., 2006). Após encontrar um fruto que apresente pelo menos 40% de umidade, nos estádios de expansão e início da granação, a fêmea da broca acasalada abre um orifício, geralmente na região da coroa do fruto e inicia o processo de oviposição (DAMON, 2000). A duração média do ciclo de vida da broca, o qual ocorre todo dentro do fruto, varia de 23,3 a 53,7 dias, nas temperaturas médias de 30 e 20 °C, respectivamente (JARAMILLO et al., 2009). Após esse período dentro do fruto, as fêmeas acasaladas voam em busca de novos frutos, atingindo um novo pico no início da maturação (FERNANDES et al., 2011). Após o estágio de maturação, a broca ainda apresenta um último pico, o qual ocorre na entressafra, o que mostra a importância de realizar uma colheita bem feita, com repasse, sem deixar frutos na planta e no chão. Além disso, é necessário realizar um manejo da praga utilizando armadilhas nesse período, objetivando diminuir a densidade populacional do inseto na safra seguinte.

Maiores capturas da broca-do-café no estágio de chumbinho também foram registradas em cafeeiros *C. canephora* e *C. arabica* (PEREIRA, et al., 2012; FERNANDES et al., 2014). No entanto, é importante ressaltar que as épocas de maiores picos do inseto na lavoura, podem variar dependendo da região, devido aos fatores climáticos (PEREIRA, et al., 2012).

## 2.4 CONCLUSÕES

- Todas as misturas atrativas e cores das armadilhas capturaram adultos da broca-do-café;
- Durante todos os estádios fenológicos do fruto, constatou-se a presença da broca-do-café.

## 2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARISTIZÁBAL, L.F.; LARA, O.; ARTHURS, S.P. Implementing an integrated pest management program for coffee berry borer in a specialty coffee plantation in Colombia. **Journal of Integrated Pest Management**, v.3, n.1, p.1-5, 2012.

ARISTIZÁBAL, L.F.; JIMÉNEZ, M.; BUSTILLO, A.E; TRUJILLO, H.I; ARTHURS, S.P. Monitoring coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), populations with alcohol- baited funnel traps in coffee farms in Colombia. **Florida Entomologist**, v.98, n.1, p.381-383, 2015.

ARISTIZÁBAL, L.F.; BUSTILLO, A.E.; ARTHURS, S.P. Integrated Pest Management of Coffee Berry Borer: Strategies from Latin America that Could Be Useful for Coffee Farmers in Hawaii. **Insects**, v.7, p.1-24, 2016.

BERNAYS, E.A.; CHAPMAN, R.F. Host-plant selection by phytophagous insects. **Plant Science**, v.102, n.1, 117-118 1994.

BRISCOE, A.D.; CHITTKA, L. The Evolution of Color Vision in Insects. **Annual Review of Entomology**, v. 46, p.471-510, 2001.

CAMARGO, Â.P. de; CAMARGO, M.B.P. de. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, v.60, p.65-68, 2001.

CASTELLAN, G.; Fundamentos de Físico-Química, LTC: Rio de Janeiro, 1986.

CRUZ, R.E.N.; MALO, E.A. Chemical analysis of coffee berry volátiles that elicit an antennal response from the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v.57, p.321-327, 2013.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.90, n.6, p.453-465, 2000.

DUFOUR, B.P.; FRÉROT, B. Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col., Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. **Journal of**



**Applied Entomology**, v.132, n.7, p.591-600, 2008.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; CAMPOS, S.O.; BASTOS, C.S.; CHEDIAK, M.; GUEDES, R.N.C.; DA SILVA, R.S. Economic injury level for the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) using attractive traps in Brazilian coffee fields. **Journal of Economic Entomology**, v.104, p.1909-1917, 2011.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, R.S.; SILVA, I.W.; FERNANDES, M. E.S.; RIBEIRO, L.H. Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, n.8, p.587-594, 2014.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; FERNANDES, M.E.S.; DÂNGELO, R.A.C.; SOUZA, F.F.; GUEDES, R.N.C. A new and highly effective sampling plan using attractant-baited traps for the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). **Journal of Pest Science**, v.88, n.2, p.289-299, 2015.

GIORDANENGO, P.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, v.19, n.4, p.763-769, 1993.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; KAMONJO, C.; JARAMILLO, A.; VEGA, F.E.; POEHLONG, H.M.; BORGEMEISTER, C. Thermal tolerance of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*: predications of climate change impact on a tropical insect pest. **Plos One**, v.4, n.8, p.1-11, 2009.

KELSEY, R.G.; WESTLIND, D.J. Ethanol and primary attraction of red turpentine beetle in fire stressed ponderosa pine. **Forest Ecology and Management**, v.396, p.44-54, 2017.

MATHIEU, F.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Factors related to native host abandonment by the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, v.121, n.3, p. 175-180, 1997.

MATHIEU, F. et al. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. **Physiological Entomology**, v.26, n.3, p. 189-193, 2001.

- MENDESIL, E.; BRUCE, T. J.A.; WOODCOCK, C.M.; CAULFIELD, J.C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J.A. Semiochemicals used in host location by coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 8, p. 944-950, 2009.
- MESSING, R.H. The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) invades Hawaii: Preliminary investigations of traps response and alternate hosts. **Insects**, v.3, p.640-652, 2012.
- MOTA, L.H.C., SILVA, W.D., SERMARINI, R.A., DEMÉTRIO, C.G.B., BENTO, J.M.S., DELALIBERA, I.JR. Autoinoculation trap for management of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) with *Beauveria bassiana* (Bals.) in coffee crops, **Biological Control**, v.111, p.32-39, 2017.
- OLIVEIRA, C.M., AUAD, A.M., MENDES, S.M., FRIZZAS, M.R. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, v.137, n. 1-2, p.1-15, 2013.
- PEREIRA, A.E.; VILELA, E.F.; TINOCO, R.S.; LIMA, J.O.; FANTINE, A.K.; MORAIS, E. G.F.; FRANÇA, C.F.M. Correlation between numbers captured and infestation levels of the Coffee Berry-borer, *Hypothenemus hampei*: A preliminary basis for na action threshold using baited traps. **International Journal of Pest Management**, v.58, n.2, p.183-190, 2012.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2009. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>. Acesso em: 09 nov. 2018.
- SILVA, F.C.; VENTURA, M.U.; MORALES, L. Capture of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in response to trap characteristics. **Scientia Agricola**, v.63, p.567-571, 2006.
- SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; SILVA, R.A.; CARVALHO, T.A. F.; PEREIRA, A.B. Controle químico da broca-do-café com cyantraniliprole. **Coffee Science**, v.8, n.4, p.404-410, 2013.
- SHOU-AN, X.; SHU-JIE, L.V. Effect of different semiochemicals blends on spruce

bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). **Entomological Science**, v.16, p.179-190, 2013.

STROM, B.L.; GOYER, R.A.; SHEA, P.J. Visual and olfactory disruption by the western pine beetle to attractant baited traps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 100, n.1, p.63-67, 2001.

UEMURA-LIMA, D.H.; VENTURA, M.U.; MIKAMI, A.Y.; SILVA, F.C. da; MORALES, L. Responses of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Scolytidae), to vertical distribution of methanol: ethanol traps. **Neotropical Entomology**, v.39, p.930-933, 2010.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A.J. The genus *Hypothenemus*, with emphasis on *H. hampei*, the coffee berry borer. In: VEGA, F. E.; HOFSTETTER, R. W. (Eds.). **Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species**. San Diego: Academic Press, 2015, pp. 427-494.

ZHANG, Q. H.; SCHLYTER, F. Olfactory recognition and behavioural avoidance of angiosperm nonhost volatiles by conifer-inhabiting bark beetles. **Agricultural and Forest Entomology**, v.6, p.1-19, 2004.

### 3 CAPÍTULO III

#### ATRATIVIDADE DE SEMIOQUÍMICOS A *Hypothenemus hampei* EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

##### RESUMO

Os compostos voláteis a base de álcoois têm sido usados como atrativos no manejo da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). No entanto, alguns destes compostos apresentam alta toxicidade ao homem e ao meio ambiente, como é o caso do metanol. Deste modo, o objetivo deste estudo é verificar a atratividade de semioquímicos em mistura com etanol (E) a *H. hampei* em olfatômetro e determinar um possível substituto para o metanol (M) na mistura com o etanol na captura da broca-do-café em campo. Os testes em laboratório foram realizados em olfatômetro, com os compostos, cinamaldeído (CND), eugenol (EU), citral (CI), acetato de etila (AE), ácido acético (AA), geraniol (GE), álcool isopropílico (AI), álcool butílico (AB) e o metanol. No experimento em campo, utilizou-se as misturas que mais se destacaram nos testes em olfatômetro, etanol: cinamaldeído, além da mistura etanol:metanol. Estes compostos foram utilizados em armadilhas transparentes confeccionadas com garrafas PET 2 L, com abertura lateral retangular (20 x 15 cm) para captura de *H. hampei*. As misturas etanol:cinamaldeído e etanol:metanol atraíram um maior número de broca-do-café em olfatômetro; a mistura etanol:metanol propiciou uma melhor eficácia na captura da broca-do-café em todas as épocas de avaliações em campo.

Palavras-chave: Compostos voláteis; atrativos; captura.

## ATTRACTIVENESS OF SEMI-CHEMICALS *Hypothenemus hampei* IN LABORATORY AND FIELD CONDITIONS

### ABSTRACT

Volatile compounds based on alcohols have been used as attractive in management of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). However, some of these compounds present high toxicity to humans and the environment, such as methanol. Thus, the objective of this study is to verify the attractiveness of semiochemicals in mixture with ethanol (E) to *H. hampei* on olfactometer and determine a possible substitute for methanol (M) in the mixture with ethanol in the capture of coffee berry borer in the field. The laboratory tests were performed in olfactometer, with the compounds, cinnamaldehyde (CND), eugenol (EU), citral (CI), ethyl acetate (EA), acetic acid (AA), geraniol (GE), isopropyl alcohol (IA), butyl alcohol (BA) and methanol. In the field experiment, the most outstanding mixtures were used in olfactometer tests, ethanol:cinnamaldehyde, beyond the mix ethanol: methanol. These compounds were used in transparent traps made with 2 L PET bottles, with rectangular side opening (20 x 15 cm) to capture of *H. hampei*. The mix E: Cinnamaldehyde and E:Methanol attracted a greater number of coffee berry borer in olfactometer; the mix E: Methanol improved efficiency in the capture of coffee berry borer in all times of field evaluations.

Keywords: Volatile compounds; attractives; catch.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Os compostos voláteis produzidos pelas plantas desempenham um papel importante no auxílio aos insetos na localização dos hospedeiros (KNOLHOFF; HECKEL, 2014; TOSH; BROGAN, 2015). A maioria dos insetos utiliza os estímulos olfativos para localizar as plantas hospedeiras. Em escolitíneos, como *Dendroctonus armandi* (Tsai; Li) *D. valens* (LeConte, 1860) os estímulos olfativos têm sido utilizados com sucesso no monitoramento (CHEN et al., 2015; KELSEY; WESTLIND, 2017).

No caso da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), os estímulos olfativos têm auxiliado no desenvolvimento de novas estratégias de manejo do inseto. Sabe-se que *H. hampei* utiliza compostos voláteis emitidos pelo fruto, principalmente os álcoois, para localizá-los (GIORDANENGO et al., 1993; MATHIEU et al., 1997). Esses álcoois, no caso, etanol em mistura com metanol são amplamente utilizados em armadilhas para monitoramento e manejo populacional da broca-do-café (DUFOUR; FRÉROT, 2008; PEREIRA et al., 2012; ARISTIZÁBAL et al., 2015).

No entanto, apesar do metanol ser um composto volátil, o mesmo apresenta alta toxicidade ao ser humano e ao meio ambiente, o que pode implicar na sua utilização no manejo de *H. hampei*. Por isso, é de suma importância a busca por novos compostos voláteis que apresentem a mesma eficiência desse álcool na atratividade do inseto e que apresente baixa toxicidade. Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs) são bastante promissores devido à sua baixa toxicidade aos seres humanos e aos animais (ISMAN, 2008). Além disso, os princípios ativos desses compostos são biodegradáveis, e não permanecem no ambiente por longos períodos (HÜTER, 2011).

Os óleos essenciais, compostos voláteis produzidos a partir do metabolismo secundário de algumas plantas (HÜSNÜ et al., 2007), são formados por várias moléculas com atividades biológicas já conhecidas, como cinamaldeído (CHENG et al., 2008) principal componente ativo do óleo essencial da canela (*Cinnamomum* sp), o qual é utilizado em armadilha na captura de *Holotrichia* (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae) (LI et al., 2013), o eugenol, composto primário do óleo de cravo, e geraniol, monoterpene marjoritário do óleo de rosas, ambos utilizados na captura de *Phyllopertha horticola* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Scarabaeidae) e *Popillia japonica*

(Newman, 1841) (Coleoptera: Scarabaeidae: Rutelinae) (RUTHER; MAYER, 2005; CHEN et al., 2014) e o acetato de etila, encontrado em frutos maduros de café, usado na captura de *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae) (AL-SAOUDA, 2013). Apesar da atratividade destes compostos para alguns coleópteros, são poucos os estudos que avaliam o potencial atrativo dos mesmos para *H. hampei*.

Desse modo, o presente estudo teve por objetivo verificar a eficiência de compostos voláteis na atratividade de *H. hampei* em mistura com etanol em olfatômetro e determinar um possível substituto para o metanol na mistura com o etanol na captura da broca-do-café em campo.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 Atratividade de compostos voláteis a *Hypothenemus hampei* em olfatômetro

O experimento foi conduzido no laboratório de entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Tecnológico e Científico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES).

As fêmeas adultas de *H. hampei* utilizadas nos testes foram retiradas da criação estabelecida no setor de entomologia do CCAUE-UFES. Esses insetos são mantidos sob condições de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 5\%$  umidade relativa, em caixas plásticas (15 x 30 x 5 cm), com tampa contendo frutos, ocupando apenas uma lateral da caixa, ficando a outra lateral livre para que as brocas recém-emergidas, ao deixarem os grãos, se deslocassem para a extremidade livre para coleta. A coleta foi feita com succionador de insetos pequenos, adaptado a uma bomba-de- vácuo (DALVI; PRATISSOLI, 2012). As fêmeas foram individualizadas e mantidas em jejum por no mínimo 12 horas antes da realização dos testes.

Os testes foram realizados em olfatômetros feitos com gerbox de plástico redondo com quatro braços, acoplado a uma base quadrada de madeira com quatro coolers, um em cada lado, com distância de 16 cm até os braços do olfatômetro. O transporte do ar dos tratamentos para a arena central do olfatômetro foi feito por meio de uma mangueira de silicone (8 cm de comprimento) conectada ao orifício da arena central e da arena lateral, com auxílio do cooler (Figura 1A). Em cada arena lateral realizou-se uma abertura,

protegida com tecido Voil, a fim de auxiliar na dispersão dos compostos para a arena central. Os testes foram realizados em sala climatizada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e UR  $65 \pm 5\%$ ).

Cinco fêmeas acasaladas de *H. hampei* foram inseridas na arena central de cada olfatômetro com o auxílio de um pincel com ponta fina, observando-se o comportamento e movimentação (Figura 1B). Imediatamente, após a inserção das fêmeas, colocou-se a tampa do olfatômetro com vários orifícios, juntamente com um tecido Voil. Registrou-se como uma “escolha” quando o inseto entrou em um dos braços do olfatômetro e permaneceu por um minuto. Os insetos que permaneceram imóveis por três minutos foram substituídos, conforme descrito por Wang et al. (2016). A observação foi feita por meio visual e cronômetro por um turno de 30 minutos.

Após cada repetição, os olfatômetros foram lavados por uma solução de hexano e colocados pra secar. Trocou-se as posições dos compostos para evitar possíveis interferências na resposta dos insetos. Realizou-se os experimentos entre às 14 e 18 horas, o que corresponde ao período de maior atividade e vôo do inseto (SILVA, et al., 2014). Em cada arena lateral do olfatômetro colocou-se um algodão umedecido com os respectivos compostos (Figura 1C). Todos os novos compostos testados apresentaram 99,8% de pureza, confirmados por meio de análises de cromatografia gasosa. Em todos os testes, a proporção utilizada nas misturas com o etanol foi de 1:1. A mistura referência utilizada foi Etanol (E):Metanol (M), com (99,9% e 100% de pureza), respectivamente.

Os compostos utilizados na mistura com o etanol foram:

**Teste 1** - Etanol: Cinamaldeído (CND), Etanol: Eugenol (EU), Etanol: Citral (CI) e Etanol: Metanol;

**Teste 2** - Etanol: Acetato de etila (AE), Etanol: Ácido acético (AA), Etanol: Geraniol (GE) e Etanol:Metanol;

**Teste 3** - Etanol: Álcool isopropílico (AI), Etanol: Álcool butílico (AB), Etanol: Cinamaldeído: Ácido acético e Etanol: Metanol;

**Teste 4** - Etanol:Cinamaldeído, Etanol:Metanol:Cinamaldeído, Etanol:Cinamaldeído: Ácido acetico e Etanol:Metanol.



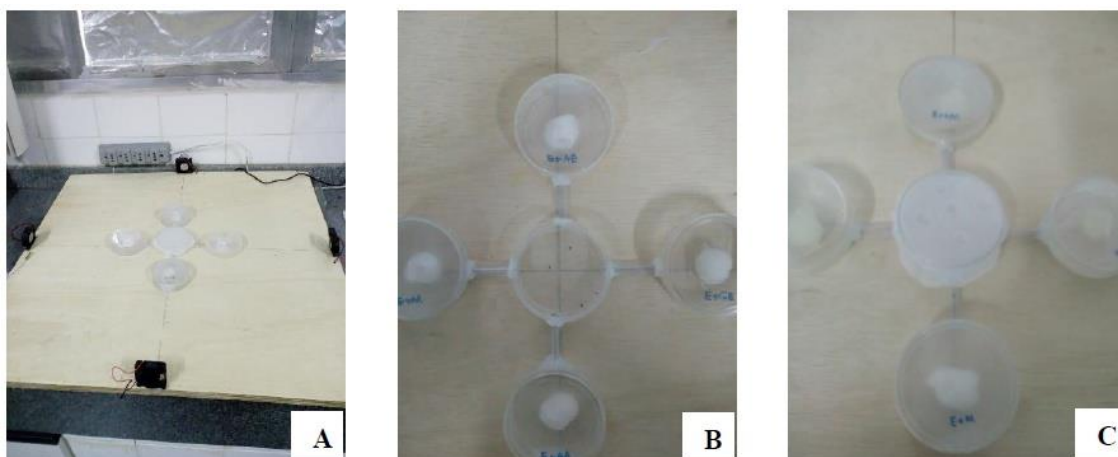


Figura 1. Testes de atratividade de *Hypothenemus hampei* a diferentes compostos químicos. A. olfatômetro acoplado a uma base de madeira com cooler; B. fêmeas adultas depositadas na arena central; C. Algodão umedecido com os diferentes compostos depositados nas arenas laterais (Foto: Arquivo pessoal).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5% no *software* estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).

### 3.2.2 Resposta olfativa de *Hypothenemus hampei* a semioquímicos em campo

Os experimentos foram conduzidos em uma lavoura de *Coffea arabica* cultivar ‘Catuaí vermelho’, localizada no distrito de Celina, município de Alegre, (latitude 20° 45’ 50,28’’ S e longitude 41° 35’ 30,72’’ W), Espírito Santo, altitude de 700 m ao nível do mar, espaçamento 1,70 x 2,70 m, no período de Novembro/2017 até Abril/2018.

Para captura de *H. hampei* foram utilizadas armadilhas transparentes confeccionadas com garrafas PET 2 L, com abertura lateral retangular (20 x 15 cm), por apresentarem baixo custo (FERNANDES et al., 2015).

As armadilhas foram acopladas a estacas de bambu a 1,5 m de altura do solo como descrito por UEMURA-LIMA et al (2010), com arame galvanizado número 12. Na parte interna de cada armadilha, foi fixado com barbante um frasco de vidro de 12 ml, contendo os compostos químicos. Esse frasco foi vedado com tampa plástica de rosca, com um

orifício de diâmetro de 2 mm no centro, para liberação do atrativo (Fig. 2). No fundo da armadilha foram adicionados 120 mL de água com 5% de detergente neutro para captura dos insetos. Após as coletas, os insetos foram levados ao laboratório para contagem.

Utilizou-se as misturas que mais se destacaram na atratividade da broca-do-café em laboratório, que foram o Etanol (E): Cinamaldeído (CND) e a mistura referência Etanol: Metanol (M), na proporção 1:1 com um volume da mistura de 12 mL. As soluções foram preparadas no Núcleo de Desenvolvimento Tecnológico e Científico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI).

As aberturas das armadilhas foram posicionadas para o centro da entre linha do café, para possibilitar que a pluma odorífera do atrativo se dispersasse entre as fileiras (FERNANDES et al., 2014). Foram distribuídas 50 armadilhas em toda a área, equidistantes (15x15m) ao longo de 10 blocos inteiramente casualizados, com cinco armadilhas por bloco com seus respectivos tratamentos. Cada ponto amostral foi previamente georreferenciado.



Figura 2. Armadilha à base de garrafa Pet de 2L transparente com a mistura Etanol: Cinamaldeído, proporção 1:1, para captura de *Hypothenemus hampei* (Foto: Arquivo pessoal).

O experimento foi conduzido em blocos inteiramente casualizados com parcelas subdivididas no tempo. Sendo os dois atrativos Etanol: Cinamaldeído e Etanol:Metanol nas proporções 1:1 avaliados quinzenalmente.

As coletas dos dados experimentais foram realizadas na safra 2017/2018, nos seguintes estádios fenológicos do cafeeiro: chumbinho (novembro), expansão (dezembro), granação (janeiro/fevereiro/março) e maturação (abril).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5% no *software* estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009).

Para coleta dos dados de precipitação (mm) e temperatura (°C) foi instalada uma estação meteorológica na área em que o experimento foi conduzido.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Atratividade de compostos voláteis a *Hypothenemus hampei* em olfatômetro

As respostas das fêmeas de *H. hampei* em olfatômetro no teste 1, mostram preferência pela mistura Etanol:Cinamaldeído, com 2,1 brocas atraídas, diferindo estatisticamente das misturas Etanol:Eugenol e Etanol:Citral, as quais atraíram 0,7 e 0,3 brocas, respectivamente. Porém, não houve diferença em relação à mistura Etanol:Metanol, a qual atraiu 1,0 broca ( $F_{39:36} = 6,48$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 1).

Tabela 1. Adultos de *Hypothenemus hampei* atraídos pelos compostos voláteis em olfatômetro.

Atrativo	Média
Etanol:Cinamaldeído	2,1±0,04a
Etanol:Metanol	1,0±0,01ab
Etanol:Eugenol	0,7±0,02b
Etanol:Citral	0,3±0,01b

\*Médias representadas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em relação ao teste 2, não houve diferença estatística entre as misturas Etanol: Acetato de etila, Etanol: Ácido acético, Etanol: Geraniol e Etanol: Metanol, as quais atraíram 0,4; 1,0; 0,6; 0,9 brocas, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Adultos de *Hypothenemus hampei* atraídos pelos compostos voláteis em olfatômetro.

Atrativo	Média
Etanol:Acetato de etila	0.4±0,01a
Etanol:Ácido acético	1,0±0,04a
Etanol:Geraniol	0.6±0,02a
Etanol:Metanol	0.9±0,02a

\*Médias representadas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No teste 3, não houve diferença estatística entre as misturas Etanol: Álcool isopropílico, Etanol: Álcool butílico, Etanol:Cinamaldeído:Ácido acético e Etanol:Metanol, as quais 0,5; 0,5; 0,2 e 1,3 brocas, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Adultos de *Hypothenemus hampei* atraídos pelos compostos voláteis em olfatômetro.

Atrativo	Média
Etanol:Álcool isopropílico	0.5±0,02a
Etanol:Álcool butílico	0.5±0,03a
Etanol:Cinamaldeído:Ácido acético	0.2±0,03a
Etanol:Metanol	1.3±0,05a

\*Médias representadas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No teste 4, as fêmeas de *H. hampei* mostraram preferência pelas misturas Etanol:Cinamaldeído, com 2,0 brocas atraídas, diferindo estatisticamente das misturas Etanol:Cinamaldeído:Metanol e Etanol:Cinamaldeído:Ácido acetico, as quais atraíram 0,5 brocas cada. No entanto, não houve diferença em relação à mistura Etanol:Metanol, a qual atraiu 1,6 brocas ( $F_{39:36} = 12,20$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 4).

Tabela 4. Adultos de *Hypothenemus hampei* atraídos pelos compostos voláteis em olfatômetro.

Atrativo	Média
Etanol:Cinamaldeído	2,0±0,08a
Etanol:Metanol	1,6±0,05a
Etanol: Cinamaldeído:Ácido acético	0.5±0,01b
Etanol:Cinamaldeído:Metanol	0,5±0,010b

\*Médias representadas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As fêmeas de *H. hampei* foram significativamente mais atraídas pelas misturas Etanol: Cinamaldeído e Etanol:Metanol. Estes resultados, sugerem que o composto volátil, Cinamaldeído, apresenta potencial para substituir o metanol. Além disso, este composto apresenta baixa toxicidade ao homem e ao meio ambiente (ISMAN, 2008), o que o torna uma alternativa promissora para ser utilizado em armadilhas no manejo fitossanitário da broca-do-café.

A atratividade da mistura Etanol:Cinamaldeído a *H. hampei*, pode estar relacionada ao fato de este composto ser um aldeído, o qual é um dos principais voláteis produzidos pelos frutos de *Coffea arabica* e *C. canephora*, e um dos responsáveis pela resposta olfativa da broca-do-café (MATHIEU et al., 1996; WARTHEN et al., 1997). Além disso, este composto apresenta um aroma marcante, uma vez que o mesmo é amplamente utilizado nas indústrias de fragrâncias (COCCHIARA et al., 2005; LÓPEZ-MATA et al., 2017). Vários estudos têm relatado a eficiência do Cinamaldeído em armadilhas como atrativo de outras espécies de coleópteros, como *Astylus variegatus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Melyridae), *Bruchus rufimanus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Holotrichia oblita* (Faldermann, 1835) (Coleoptera: Scarabaeidae) (VENTURA et al., 2007, BRUCE et al. 2011, LI et al., 2013).

### 3.3.2 Resposta olfativa de *Hypothenemus hampei* a semioquímicos em campo

Houve interação entre os fatores produtos e épocas de avaliações ( $F_{89:64} = 11,86$ ;  $p > 0,005$ ) tabela 5.

Em todas as épocas de avaliações houve maior captura de *H. hampei* na mistura Etanol:Metanol, com maiores capturas que ocorreram nas avaliações 30/11 no estágio de chumbinho (novembro) e 15/02 no estágio de expansão (dezembro) com 26,0 e 23,2 insetos, diferindo estatisticamente da mistura Etanol:Cinamaldeído, a qual apresentou maior captura na avaliação 15/12 no estágio de expansão (dezembro) com 16,0 insetos ( $F_{89:64} = 23,67$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 5).

Nos resultados de captura de *H. hampei* dentro de cada atrativo, observa-se que na mistura Etanol:Metanol, as maiores capturas ocorreram nas avaliações 30/11 nos estádios de chumbinho (novembro) e 15/12 no estágio de expansão (dezembro) com 26,00 e 23,20 insetos, diferindo estatisticamente das demais épocas de avaliações ( $F_{89:64} = 32,14$ ;  $p > 0,005$ ) Na mistura Etanol:Cinamaldeído, a maior captura ocorreu na avaliação

15/12, estágio de granação (dezembro) com 16,00 insetos, diferindo estatisticamente das demais épocas ( $F_{89;64}=32,14$ ;  $p>0,005$ ) Tabela 5.

Tabela 5. Adultos de *Hypothenemus hampei* capturados em armadilhas com diferentes misturas atrativas em avaliações quinzenais.

Épocas de Avaliações	Produto	
	Etanol:Metanol	Etanol:Cinamaldeído
30/11 (chumbinho)	26,00±3,07Aa	5,30±0,51BCb
15/12 (expansão)	23,20±1,08ABa	16,00±0,74Ab
30/12 (expansão)	13,20±1,49CDa	8,55±0,64Bb
15/01 (granação)	9,44±0,80Da	4,20±0,77CDb
30/01 (granação)	7,80±0,94Da	4,20±0,26CDb
15/02 (granação)	14,82±0,97CDa	2,80±0,47CDb
02/03 (granação)	12,8±0,97CDa	2,80±0,47CDb
17/03 (maturação)	11,20±1,62CDa	2,00±0,43CDb
02/04 (maturação)	12,23±1,49CDa	2,00±0,16CDb

\*Médias representadas por letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No experimento em campo, a mistura Etanol:Cinamaldeído não teve a mesma eficiência na atratividade de *H. hampei* em relação aos testes em olfatômetro (tabelas 1 e 4), o que resultou em uma menor captura quando comparado com a mistura E:Metanol em todas as avaliações.

Estes baixos níveis de captura de *H. hampei* nas armadilhas com cinamaldeído em mistura com etanol em relação à mistura referência Etanol: Metanol podem estar relacionados ao fato de este composto ter apresentado baixa volatilização nas condições ambientais apresentadas. O aumento da evaporação de um produto está diretamente ligado à pressão de vapor (DOLLIMORE, 1999), tendo em vista que a pressão de vapor do cinamaldeído é 5 mmHg a 20 °C, conseqüentemente, a dispersão foi mais lenta, enquanto que o metanol apresenta uma pressão de vapor de 100 mmHg a 21, 2 °C, o que favoreceu na sua dispersão, uma vez que a temperatura média durante a execução do experimento foi de  $25 \pm 5$  °C. Outra propriedade físico-química destes compostos que pode ter influência na volatilização é o ponto de ebulição, visto que o cinamaldeído apresenta essa propriedade na ordem de 248 °C, e isso pode ter dificultado a sua dispersão, enquanto, que o metanol apresenta um ponto de ebulição bem menor no valor de 64,7 °C, o que favorece a rápida evaporação deste álcool. Outra questão está ligada ao tamanho da molécula desses compostos, o cinamaldeído apresenta uma molécula bem maior em

relação ao metanol, conseqüentemente as interações são mais fortes, o que acarreta na evaporação mais lenta (RUSSEL, 1994).

Nos resultados de captura de *H. hampei* dentro de cada atrativo, observa-se que na mistura Etanol:Metanol, as maiores densidades da broca ocorreram nas avaliações 30/11 (chumbinho) e 15/12 (expansão) e na mistura Etanol:Cinamaldeído, a maior densidade da broca ocorreu na avaliação 15/12 (expansão), esses estádios fenológicos do fruto de café que apresentaram maiores capturas correspondem aos períodos de maior trânsito da praga na lavoura, quando as brocas saem dos frutos que ficaram no chão na safra anterior e voam em busca de novos frutos (DAMON, 2000). Maiores capturas nesses períodos também foram observadas em outros estudos sobre o pico da broca na lavoura de café (PEREIRA et al., 2012).

### 3.4 CONCLUSÕES

- As misturas Etanol:Cinamaldeído e Etanol:Metanol atraíram um maior número de broca-do-café em olfatômetro;
- A mistura Etanol:Metanol propiciou uma melhor eficácia na captura da broca-do-café em todas as épocas de avaliações em campo.



### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-SAOUDA, A. Effect of ethyl acetate and trap colour on weevil captures in red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) pheromone traps. **International Journal of Tropical Insect Science**, v.33, n.3, p.202-206, 2013.
- ARISTIZÁBAL, L.F.; JIMÉNEZ, M.; BUSTILLO, A.E; TRUJILLO, H.I; ARTHURS, S.P. Monitoring coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), populations with alcohol- baited funnel traps in coffee farms in Colombia. **Florida Entomologist**, v.98, n.1, p.381-383, 2015.
- BRUCE, T.J.; MARTIN, J.L.; SMART, L.E.; PICKETT, J.A. Development of semiochemical attractants for monitoring bean seed beetle, *Bruchus rufimanus*. **Pest Management Science**, v.67, p.1303-1308, 2011.
- COCCHIARA, J.; LETIZIA, S.; LALKO, J.; LAPCZYNSKI, A.; API, A.M. Fragrance material review on cinnamaldehyde. **Food and Chemical Toxicology**, v.43, p.867-923, 2005.
- CHENG, S.S.; LIU, J.Y.; CHANG, E.H.; CHANG, S.T. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood- rot fungi. **Bioresource Tecnol.**, New York, v.99, n.11, p.5145-5149, 2008.
- CHEN, R.; KLEIN, M.G.; LI, Y.; LI, Q.; SHEND, C. Japanese beetle lures alone or combined with structurally related chemicals to trap NE china scarabs (Coleoptera Scarabaeidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**. v.17, n.4, p.871-877, 2014.
- CHEN, G.; SONG, Y.; WANG, P.; CHEN, J.; ZHANG, Z.; WANG, S.; HUANG, X.; ZHANG, Q. H. Semiochemistry of *Dendroctonus armandi* Tsai and Li (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae): both female-produced aggregation pheromone and host tree kairomone are critically importante. **Chemoecology**. v.25, n.3, p.135-145, 2015.
- DALVI, L. P.; PRATISSOLI, D. Técnica de criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). In: PRATISSOLI, D. (Ed.). **Técnicas de criação de pragas de importância agrícola, em dietas naturais**. Vitória: EDUFES, 2012, p.297-305.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.90, n.6, p.453-465, 2000.

DOLLIMORE, D. **Thermochimica Acta**, v.19, p.340-341, 1999.

DUFOUR, B.P.; FRÉROT, B. Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col., Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. **Journal of Applied Entomology**, v.132, n.7, p.591-600, 2008.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; SILVA, R.S.; SILVA, I.W.; FERNANDES, M. E.S.; RIBEIRO, L.H. Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, n.8, p.587-594, 2014.

FERNANDES, F.L.; PICANÇO, M.C.; FERNANDES, M.E.S.; DÂNGELO, R.A.C.; SOUZA, F.F.; GUEDES, R.N.C. A new and highly effective sampling plan using attractant-baited traps for the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). **Journal of Pest Science**, v.88, n.2, p.289-299, 2015.

GIORDANENGO, P.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, v.19, n.4, p.763-769, 1993.

HUANG, B.; YUAN, H.D.; KIM, Y.; QUAN, H.Y.; CHUNG, S.H. Cinnamaldehyde prevents adipocyte differentiation and adipogenesis via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.8, p.3666-3673, 2011.

HÜSNÜ, K.; BASER, K.H.C.; DEMIRCI, F. Chemistry of essential oils. In: Berger R.G. (Ed.), *Flavors and Fragrances: chemistry, bioprospecting and sustainability*. **Springer**, 2007, p.43-86.

HÜTER, O.F. Use of natural products in the crop protection industry. **Phytochemistry Reviews**, v.10, p.185-194, 2011.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides: for richer, for poorer. **Pest Management Science**, v.64, p.8-11, 2008.

KELSEY, R.G.; WESTLIND, D.J. Ethanol and primary attraction of red turpentine beetle in fire stressed ponderosa pine. **Forest Ecology and Management**. v.396, p.44-54, 2017.

KNOLHOFF, L.M.; HECKEL, D.G. Behavioral assays for studies of host plant choice and adaptation in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, v.59, p.263-278, 2014.

LEE, H. S.; AHN, Y.J. Growth-inhibiting effects of CC bark-derived materials on human intestinal bacteria. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.46, p.8-12, 2008.

LI, W.; YANG, L.; SHEN, X.W.; YUAN, Y.H.; YUAN, G.H, LUO, M.H.; GUO, X.R. Electroantennographic and behavioural responses of scarab beetles to *Ricinus communis* leaf volatiles. **Acta Ecologica Sinica**, v.33, p.6895-6903, 2013.

LÓPEZ-MATA, M.A.; RUIZ-CRUZ, S.; de JESÚS ORNELAS-PAZ, J.; DEL TORO-SÁNCHEZ, C.L.; MÁRQUEZ-RÍOS, E.; SILVA-BELTRÁN, N.P.; CIRACHÁVEZ, L.A.; BURRUEL-IBARRA, S.E. Mechanical, barrier and antioxidant properties of chitosan films incorporating cinnamaldehyde. **Journal of Polymers Environment**, v.26, n.2, p.452-461, 2017.

MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; CAIN, A.H.; FRÉROT, B. Comparative headspace analysis of fresh red coffee berries from different cultivated varieties of coffee trees. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.19, n.5, p.298-300, 1996.

MATHIEU, F.; BRUN, L.O.; FRÉROT, B. Factors related to native host abandonment by the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Applied Entomology**, v.121, n.3, p. 175-180, 1997.

OLIVEIRA, J.V.; VENDRAMIM, J.D. Repelência de óleos essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera:Bruchidae) em sementes de feijoeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, p.549-555, 1999.

PEREIRA, A.E.; VILELA, E.F.; TINOCO, R.S.; LIMA, J.O.; FANTINE, A.K.; MORAIS, E. G.F.; FRANÇA, C.F.M. Correlation between numbers captured and infestation levels of the Coffee Berry-borer, *Hypothenemus hampei*: A preliminary basis for an action threshold using baited traps. **International Journal of Pest Management**, v.58, n.2, p.183-190, 2012.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2009. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>. Acesso em: 12 dez. 2018.

RUSSEL, J. B. **Química Geral**, vol. 1. 2ª edição, São Paulo; Makron Books, 1994, 614p.

RUTHER, J.; MAYER, C.J. Response of Garden chafer, *Phyllopertha horticola*, to plant volatiles: from screening to application. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.115, n. 1, p. 51-59, 2005.

SILVA, W.D.; COSTA, C.M.; BENTO, J.M.S. How old are colonizing *Hypothenemus hampei* (Ferrari) females when they leave the native coffee fruit? **Journal of Insect Behavior**, v.27, n.6, p.729-735, 2014.

TOSH, C.R.; BROGRAN, B. Control of tomato whiteflies using the confusion effect of plant odours. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p.183-193, 2015.

VENTURA, M.U.; MARTINS, M.C.; PASINI, A. Responses of *Diabrotica speciosa* and *Cerotoma arcuata tingomariana* (Coleoptera: Chrysomelidae) to volatile attractants. **The Florida Entomologist**, v.83, n.4, p.403, 2000.

VENTURA, M.U.; PEREIRA, T.; NUNES, D.H.; ARRUDA, I.C. Attraction of *Astylus variegatus* (Germ.) (Coleoptera: Melyridae) by volatile floral attractants. **Scientia agrícola**, v.64, n.3, p. 305-307, 2007.

WANG, Y.; XING, X.; ZHAO, H.; CHEN, Q.; LUO, W.; REN, B. Screening of essential oil antifeedants in the elm pest *Ambrostoma quadriimpressum* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 2. P. 231-238, 2016.

WARTHEN, J.D.; LEE, C.J.; JANG, E.B.; LANCE, D.R.; MCLNNIS, D.O. Volatile, potential attractants from ripe coffee fruit for female mediterranean fruit fly. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 23, n. 7, p. 1981-1990, 1997.

#### 4 CAPÍTULO IV

### **MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* EM CAMPO, PRÉ E PÓS-APLICAÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* (BALSAMO) ASSOCIADO A EMULSIFICANTES**

#### **RESUMO**

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) apresenta um ciclo de vida críptico, o qual ocorre todo dentro do fruto, o que torna o seu controle uma tarefa difícil. Por essa razão, um dos métodos que tem se destacado é o controle biológico por meio do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales: Cordycipitaceae). No entanto, a eficiência deste fungo está condicionada a fatores ambientais, como radiação ultravioleta, temperatura, umidade, concentração, correta aplicação, entre outros. Diante disso, o objetivo do presente estudo é avaliar a mortalidade da broca-do-café, pré e pós-aplicação do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* associado a emulsificantes em condições de campo. Os experimentos foram conduzidos em três lavouras em diferentes localidades. O isolado do fungo utilizado foi o PL63, e os emulsificantes (Goma arábica e X1) avaliados foram a goma arábica e o X1 (produto sujeito a patente). Realizaram dois modos de aplicação: pré e pós-liberação da broca. Na pré-aplicação, pulverizou-se os fungos em mistura com os emulsificantes e puros, e após trinta minutos liberou-se a broca. Na pós-aplicação, liberou os insetos, e após 24 horas, aplicou-se o fungo com os emulsificantes e puros. Todos os tratamentos testados apresentaram mortalidade da broca-do-café; os agentes emulsificantes (Goma e X1) em mistura com o fungo *B. bassiana*, não aumentaram a mortalidade da broca-do-café; a aplicação do fungo *B. bassiana* com pré-liberação da broca, propiciou maior mortalidade.

Palavras-chave: Controle microbiano; fatores ambientais; proteção.

**MORTALITY OF COFFEE BERRY BORER, *Hypothenemus hampei* IN FIELD,  
PRE AND POST APPLICATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS  
*Beauveria bassiana* (BALSAMO) ASSOCIATED TO EMULSIFIERS**

**ABSTRACT**

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) presents a cryptic life cycle, which occurs all within the fruit, which makes its control a difficult task. For this reason, one of the methods that has stood out is the biological control through the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales: Cordycipitaceae). However, the efficiency of this fungus is conditioned to environmental factors, such as ultraviolet radiation, temperature, humidity, concentration, correct application, among others. Therefore, the objective of the present study is to evaluate the mortality of coffee berry borer, pre and post application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* associated with emulsifiers under field conditions. The experiments were conducted in three farms in different locations. The fungus isolate used was the PL63, and emulsifiers (Gum arabic and X1) evaluated were gum arabic and X1 (product subject to patent). Two modes of application were performed: pre and post the coffee berry borer release. In the pre-application, the fungi were mixed in with the emulsifiers and the pure, and after thirty minutes, the coffee berry borer was released. In the post-application, it released the insects, and after 24 hours, the fungus was applied with the emulsifiers and pure. All treatments tested showed coffee berry borer mortality; the emulsifying agents (Gum and X1) in admixture with the fungus *B. bassiana*, did not increase the mortality of coffee berry borer; the application of the fungus *B. bassiana* before the entry of the drill into the coffee fruit, resulted in higher mortality.

Keywords: Microbial control; Environmental factors; protection.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionide: Scolytinae) é a praga mais importante do café em todo o mundo (INFANTE et al., 2012). No Brasil, os prejuízos ultrapassam 300 milhões de dólares (OLIVEIRA et al., 2013). E, devido ao seu ciclo de vida críptico, o qual ocorre todo dentro do fruto, o controle se torna uma tarefa difícil (DAMON, 2000; VEGA et al., 2015).

Por essa razão, um dos métodos de controle que tem se destacado é o biológico por meio do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) (Hypocreales: Cordycipitaceae), o qual infecta a broca-do-café em todo mundo (MONZÓN et al., 2008; VEGA et al., 2009; WRAIGHT et al., 2018). Este entomopatógeno, ocorre naturalmente, com níveis de infecção ao inseto que variam de 1 a 70% em diversos países produtores de café como Brasil (COSTA et al., 2002), Colômbia (POSADA-FLÓREZ et al., 2008), Nicarágua (MONZÓN et al., 2008), Porto Rico (GALLARDO-COVAS et al., 2010) e Camarões (MBANG et al., 2012). Na maioria dos casos, as mortalidades foram atribuídas a condições ambientais altamente favoráveis (durante estações chuvosas ou períodos prolongados de alta umidade). As condições ambientais mais favoráveis à atividade do fungo *Beauveria bassiana* em geral são temperatura moderada, alta umidade e baixa insolação (ZIMMERMANN, 2007; JARONSKI, 2010; WRAIGHT et al., 2018).

Apesar de esse agente microbiano desempenhar um importante papel no controle de *H. hampei*, a sua eficiência está condicionada a fatores ambientais, como radiação ultravioleta, temperatura, umidade, altitude, concentração, correta aplicação, entre outros (VEGA et al., 2015; ARISTIZÁBAL et al., 2016). A radiação ultravioleta e temperaturas elevadas reduzem a viabilidade de conídios no campo, pois afeta seu metabolismo alterando os processos de produção de enzimas, toxinas, germinação de esporos, desenvolvimento do tubo germinativo, penetração, colonização e reprodução (ALVES; LECUONA, 1998; RODRIGUES et al., 2016.). Além disso, o fungo perde sua capacidade de infecção quando submetido à luz solar direta por três horas (ALVES; LECUONA, 1998; RODRIGUES et al., 2016). O que torna esses fatores, os principais obstáculos para o sucesso do uso de fungos entomopatogênicos na agricultura (RANGEL et al., 2008; CASTRILLO et al., 2010; RODRIGUES et al., 2016).

Neste contexto, o uso de agentes que possam atuar como protetores do fungo contra condições ambientais adversas, surge como uma possível alternativa. Dentre estes, destacam-se: os emulsificantes, os quais são aditivos de grande importância nas indústrias alimentícias, e têm se destacado nas técnicas de encapsulamento, com o propósito de aumentar a viabilidade dos microrganismos (YÁÑEZ-FERNÁNDEZ et al., 2008). Alguns emulsificantes têm sido testados em mistura com o fungo *Beauveria bassiana*, como, por exemplo, óleo de mamona a 2% em mistura com o formulado Boveril® na concentração de  $3 \times 10^5$  conídios/mL, apresentou mortalidade de larvas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) significativamente maior comparado com a utilização do fungo puro (RONDELLI et al., 2011). Mas, são poucos os estudos que avaliam a eficiência de emulsificantes como agentes protetores do fungo *B. bassiana* na mortalidade de *H. hampei* em condições de campo.

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo determinar a mortalidade de *H. hampei* em campo, pré e pós-aplicação do fungo *B. bassiana* em associação com emulsificantes.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos em três lavouras de café em diferentes localidades nos meses de maio/2018 e junho/2018.

**4.2.1 Ensaio 1.** Sítio Córrego fundo, localizado no município de Mimoso do Sul (latitude 20° 95' 26,05'' S e longitude 41° 60' 57,43'' W), Espírito Santo, altitude de 850 m ao nível do mar, *Coffea arabica* cultivar 'Catuaí amarelo', com quinze anos, espaçamento 2,0 x 1,0 m, temperatura média de  $25 \pm 5$  °C e umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10$  %.

**4.2.2 Ensaio 2.** Área experimental do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Alegre-ES, localizado no distrito de Rive, (latitude 20° 45' 50'' S e longitude 41° 27' 25''), Espírito Santo, altitude de 290 m ao nível do mar, *Coffea arabica* cultivar 'Catuaí amarelo' com quinze anos, espaçamento 2,5 x 1,0 m, temperatura média de  $26 \pm 5$  °C e UR de  $60 \pm 10$  %.

**4.2.3 Ensaio 3.** Sítio Bom Ver, localizado no município de Alegre, (latitude 20° 52' 23,07'' S e longitude 40° 29' 8,76'' W), Espírito Santo, Brasil, altitude de 700 m ao nível do mar, *Coffea arabica* cultivar 'Catuaí vermelho' com doze anos, espaçamento 2,5 x 0,6 m, temperatura média de  $25 \pm 5$  °C e UR de  $65 \pm 10$  %.



#### 4.2.4 Obtenção do fungo

O fungo *B. bassiana*, isolado ESALQ-PL63, produto comercial, Boveril®, foi fornecido pela empresa Koppert Brasil Ltda.

#### 4.2.5 Emulsificantes

- Goma arábica, polímero que consiste primariamente de ácido D-glucurônico, L-raminose, D-galactose, e L-arabinose, com aproximadamente 5% de proteína. Sendo esta fração de proteína responsável pela propriedade de emulsificação da goma.

- X1 (produto sujeito a patente), um poliálcool derivado de frutas.

#### 4.2.6 Obtenção dos insetos

As fêmeas adultas de *H. hampei* utilizadas nos experimentos de campo foram obtidas da criação estoque do Laboratório de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Tecnológico e Científico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES (CCAUE-UFES). Esses insetos foram criados em caixas plásticas (15 x 30 x 5 cm), com tampa contendo frutos, ocupando apenas uma lateral da caixa, ficando a outra lateral livre para que as brocas recém-emergidas, ao deixarem os grãos, se deslocassem para a extremidade livre para coleta. A coleta foi feita com succionador de insetos pequenos, adaptado a uma bomba-de-vácuo (DALVI; PRATISSOLI, 2012).

#### 4.2.7 Preparo da solução

Em um Becker® de 1 L adicionou-se 500 mL de água destilada estéril. Logo após preparou-se uma solução de goma arábica a 1,0% (m/v), com incorporação subsequente de 1g do fungo *B. bassiana* com suspensão de  $1 \times 10^{12}$  conídios.mL<sup>-1</sup>. Em um segundo Becker realizou-se o mesmo procedimento com o X1 a 1,0% (m/v) e 1g do fungo *B. bassiana*. A concentração dos emulsificantes foi obtida a partir de testes preliminares de compatibilidade com a *Beauveria*. A compatibilidade foi calculada com a fórmula proposta por Alves, et al. (1998) para classificar produtos químicos conforme sua toxicidade aos fungos entomopatogênicos *in vitro*. A concentração da *Beauveria* foi utilizada de acordo com a recomendação do fabricante.

#### 4.2.8 Aplicação do produto

Em cada planta de café selecionou-se uma roseta com frutos maduros, de ambos os lados, deixando cinco frutos em cada uma. Realizou-se dois modos de aplicação: pré e pós-liberação da broca. Na pré-aplicação, pulverizou-se os conídios, com os emulsificantes e puro, sobre os frutos e após 30 minutos, período para que ocorra a secagem da solução, ensacou-se a roseta com tecido organza (Fig. 1B), e em seguida realizou-se a liberação dos insetos, em cada roseta colocou-se cinco brocas, ou seja, um inseto para cada fruto. Na pós-aplicação, liberou-se cinco brocas na roseta ensacada, e após um período de 24 horas, com a confirmação da entrada dos insetos no fruto, aplicou-se com um pulverizador de compressão prévia, com pressão de 40 libras, os conídios sobre os frutos até o ponto de escorrimento (Fig. 1A). Após cada aplicação, o pulverizador foi lavado com água destilada.

Os experimentos foram conduzidos em blocos ao acaso com cinco tratamentos (T1 - Goma arábica+*Beauveria*, T2 - X1+*Beauveria*, T3 - Goma+X1+*Beauveria*, T4 - *Beauveria* pura) e Testemunha (água) com duas repetições por tratamento. Em cada experimento utilizou-se cinco blocos contendo todos os tratamentos.



Figura 1. A - Aplicação do fungo *B. bassiana* associado aos emulsificantes sobre os frutos; B - Liberação da broca-do-café pós-aplicação dos produtos; C - Frutos ensacados com tecido Organza (Foto: Arquivo pessoal).

As avaliações de mortalidade da broca-do-café em campo foram realizadas doze dias após as aplicações (12 DAA). Os insetos mortos foram levados ao Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI e em seguida os mesmos foram acondicionados em câmara úmida e incubados em câmara climatizada tipo B.O.D a  $25 \pm 2$  °C,  $80 \pm 5\%$  de UR e fototaxe de 12 h, por dez dias, para confirmação da mortalidade através da esporulação do patógeno.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5% no *software* estatístico R (pacote ExDes.pt) (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009).

Para coleta dos dados de precipitação (mm) e temperatura (°C) foram instaladas estações meteorológicas nas áreas em que os experimentos foram conduzidos.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 Ensaio 1

Os resultados obtidos neste estudo não apresentaram interação entre os fatores, emulsificantes e aplicação pré e pós-liberação da broca, na mortalidade de *H. hampei* (Tabela 1).

Houve mortalidade da broca-do-café em todos os tratamentos testados, com o T1(goma + *B. bassiana*) apresentando um maior percentual, com 39,58% e T4 (*B. bassiana* pura) o menor com 33,33%. Porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade corrigida (%) de *Hypothenemus hampei* em aplicações do fungo *Beauveria bassiana* associado com emulsificantes e puro, no Sítio Córrego fundo, município de Mimoso do Sul-ES, com T° média de  $25 \pm 5$  °C e UR de  $70 \pm 10$  %.

Tratamentos	Média
T1 (Goma+ <i>B. bassiana</i> )	39,58±16,13a
T2 (X1+ <i>B. bassiana</i> )	36,45±19,91a
T3 (Goma+X1+ <i>B. bassiana</i> )	31,87±14,33a
T4 ( <i>B. bassiana</i> pura)	33,33±17,15a

\*Médias representadas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Nos diferentes modos de aplicações do fungo, a aplicação pré-liberação da broca (P1) apresentou maior mortalidade com 40,62%, diferindo estatisticamente ( $F_{39:32} = 4,19$ ;  $p > 0,005$ ) da aplicação pós-liberação das mesmas (P2), o qual apresentou uma mortalidade de 29,99 % (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade corrigida (%) de *Hypothenemus hampei* em aplicações do fungo *Beauveria bassiana* associado com emulsificantes e puro, pré (P1) e pós (P2) liberação dos adultos, no Sítio Córrego fundo, município de Mimoso do Sul-ES, com T° média de  $25 \pm 5$  °C, UR de  $70 \pm 10$  % e altitude de 850 m.

Modo de aplicação	Média
P1 (pré-liberação da broca)	40,62±17,59a
P2 (pós-liberação da broca)	29,99±14,05b

\*Médias representadas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

#### 4.3.2 Ensaio 2

Houve interação entre os fatores, emulsificantes e aplicação pré e pós-liberação da broca, na mortalidade de *H. hampei* ( $F_{39;32} = 2,99$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 3).

Todos os tratamentos avaliados apresentaram mortalidade sobre *H. hampei*. No entanto, não houve diferença estatística entre os tratamentos nos dois modos de aplicação descritos anteriormente (Tabela 3).

As aplicações pré e pós-liberação da broca, apresentaram mortalidade de *H. hampei*. Entretanto, não houve diferença estatística em quase todos os tratamentos, exceto no T4 em que a aplicação pré-liberação dos insetos com mortalidade de 48,88 %, diferiu estatisticamente da aplicação pós-liberação dos mesmos, com 17,77% ( $F_{39;32} = 6,01$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade corrigida (%) de *Hypothenemus hampei* com aplicação do fungo *Beauveria bassiana* associado com emulsificantes e puro, pré (P1) e pós (P2) liberação dos adultos, na Área experimental do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Alegre-ES, com T°  $26 \pm 5$  °C, UR de  $60 \pm 10$  % e altitude de 290 m.

Tratamentos	Modo de aplicação	
	P1 (pré-liberação)	P2 (pós-liberação)
T1 (Goma+B. bassiana)	37,77±18,59Aa	28,88±9,93Aa
T2 (X1+B. bassiana)	28,88±12,66Aa	33,33±7,85Aa
T3 (Goma+X1+B. bassiana)	35,55±12,17Aa	28,88±18,59Aa
T4 (B. bassiana pura)	48,88±9,93Aa	17,77±14,90Ab

\*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

### 4.3.3 Ensaio 3

Houve interação entre os fatores, emulsificantes e aplicação pré e pós-liberação da broca, na mortalidade de *H. hampei* ( $F_{39:32} = 33,32$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 4).

Todos os tratamentos avaliados apresentaram mortalidade sobre *H. hampei*. No entanto, não houve diferença estatística em quase todos os modos de aplicação, exceto na aplicação pré-liberação dos insetos, em que o T4 com mortalidade de 30,43%, diferiu estatisticamente de T1 com 4,77% ( $F_{39:32} = 38,88$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 4).

Os modos de aplicação pré e pós-liberação da broca apresentaram mortalidade de *H. hampei*. Entretanto, não houve diferença estatística em quase todos os tratamentos, exceto no T1 em que a aplicação pós-liberação dos insetos com mortalidade de 23,91%, diferiu estatisticamente da aplicação pré-liberação dos mesmos, com 4,77% ( $F_{39:32} = 0,30$ ;  $p > 0,005$ ) (Tabela 4).

Tabela 4. Mortalidade corrigida (%) de *Hypothenemus hampei* com aplicação do fungo *Beauveria bassiana* associado com emulsificantes e puro, pré (P1) e pós (P2) liberação dos adultos, no Sítio Bom Ver, município de Alegre-ES, com T° média de  $25 \pm 5$  °C, UR de  $65 \pm 10$  % e altitude de 700 m.

Tratamentos	Modo de aplicação	
	P1 (pré-liberação)	P2 (pós-liberação)
T1 (Goma+ <i>B. bassiana</i> )	4,77 $\pm$ 1,25Bb	23,91 $\pm$ 10,87 Aa
T2 (X1+ <i>B. bassiana</i> )	15,75 $\pm$ 4,70ABa	23,91 $\pm$ 13,31Aa
T3 (Goma+X1+ <i>B. bassiana</i> )	19,12 $\pm$ 10,09ABa	21,51 $\pm$ 12,11Aa
T4 ( <i>B. bassiana</i> pura)	30,43 $\pm$ 12,39Aa	18,18A $\pm$ 10,02Aa

\*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os emulsificantes (Goma arábica e X1) em mistura com fungo *Beauveria bassiana* não apresentaram melhores taxas de mortalidade da broca-do-café em relação ao fungo *B. bassiana* puro. Estes resultados, sugerem que a Goma e o X1 não aumentaram a viabilidade dos conídios, mediante os fatores ambientais adversos, principalmente a radiação UV, uma vez que os fatores temperatura e umidade se apresentaram em condições favoráveis para o desenvolvimento do fungo. A luz UV é um dos fatores determinantes na viabilidade dos conídios (RODRIGUES et al., 2016; WRIGHT et al., 2018). Estudos em laboratório com conídios puros submetidos a diferentes tempos de

radiação, mostraram que em cinco minutos de exposição à luz UV, com uma irradiância de  $6153,3 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$  ou  $22,15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ , a germinação foi de 52%, enquanto, que no controle (sem radiação) foi de 94%, aos 10 minutos este índice caiu para 11% , aos 15 minutos caiu para 1,0%, e com 20 minutos de exposição na luz UV, com uma irradiância de  $5653 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$  ou  $20,35 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ , o fungo *B. bassiana* apresentou 7,0% (RODRIGUES et al., 2016). Conídios de *Beauveria* desprotegidos são incapazes de sobreviver a mais de uma, ou a algumas horas de exposição direta à radiação solar (EDGINGTON et al., 2000). Outro fator que pode ter influenciado, está relacionado com a atividade fúngica, e no caso dos conídios, essa ação pode ser retardada, uma vez que, o tubo germinativo precisa romper a barreira dos emulsificantes, o que acarreta em uma ação mais lenta (RODRIGUES et al., 2016).

O modo de aplicação do fungo é outro fator determinante para o sucesso no controle de *H. hampei*, tendo em vista, o comportamento críptico do inseto, o qual passa a maior parte do seu ciclo de vida dentro do fruto e somente as fêmeas acasaladas saem para buscar novos frutos (DALMON, 2000). Os resultados obtidos no presente estudo, indicam que de um modo geral a aplicação do fungo pré-liberação da broca, apresentou maiores mortalidades quando comparada com aplicação pós-liberação. No campo, a contaminação do inseto por *B. bassiana* quando este se encontra com corpo parcialmente dentro do fruto, se deve, principalmente em grande parte à presença dos conídios no fruto (MOTA et al., 2017). A mortalidade de *H. hampei* na aplicação pós-liberação do inseto, pode ter ocorrido, devido ao comportamento da broca, que logo após fazer o orifício no fruto, volta à superfície para depositar o material da perfuração (SAMUELS et al., 2002).

#### 4.4 CONCLUSÕES

- Todos os tratamentos testados apresentaram mortalidade da broca-do-café;
- Os agentes emulsificantes (Goma arábica e X1) em mistura com o fungo *B. bassiana*, não aumentaram a mortalidade da broca-do-café;
- A aplicação do fungo *B. bassiana* pré-liberação da broca, propiciou maior mortalidade.

#### 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S.B.; LECUONA, R.E. Epizootiology Applied to the Microbial Control of Insects. In: ALVES, S.B. (2ªed). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba, FEALQ, 1998, p.97-170.

ALVES, S.B.; MOINO J.R.A.; ALMEIDA J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S.B., (ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, FEALQ, 1998, p.217-238.

ARISTIZÁBAL, L.F.; BUSTILLO, A.E.; ARTHURS, S.P. Integrated Pest Management of Coffee Berry Borer: Strategies from Latin America that Could Be Useful for Coffee Farmers in Hawaii. **Insects**, v.7, n.1, p.11-14, 2016.

BUSTILLO, A.E.; BERNAL, M.G.; Benavides, P.; Chaves, B. Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) populations emerging from fallen coffee berries. **Florida Entomologist**, v.82, n.4, p.491-498, 1999.

COSTA, J.N.M.; SILVA, R.B.; RIBEIRO, P.A.; Garcia, A. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. em broca-do-café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari) no estado de Rondônia, Brasil. **Acta Amazonica**, v.32, p.517-519, 2002.

CRUZ, L.P.; GAITAN, A.L.; GONGORA, C.E. Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.71, n.6, p.918-926. 2006.

DALVI, L.P.; PRATISSOLI, D.; POLANCZY, R.A.; ANDRADE, G.S. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) for the control of the coffee borer beetle *Hypothenemus hampei* (Scolytinae) in Brazil. **Biological Letters**, v.48, n.1, p.39-46, 2011.

DALVI, L. P.; PRATISSOLI, D. Técnica de criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). In: PRATISSOLI, D. (Ed.). **Técnicas de criação de**



**pragas de importância agrícola, em dietas naturais.** Vitória: EDUFES, 2012. p.297-305.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.90, n.6, p.453-465, 2000.

DE LA ROSA, W.; ALATORRE, R.; BARRERA, J.F; TORRIELLO, C. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae) Under Field Conditions. **Journal of Economic Entomology**, v.93, n.5, p.1409-1414, 2000.

EDGINGTON, S.; SEGURA, H.; LA ROSA, W. WILLIAMS, T. Photoprotection of *Beauveria bassiana*: Testing simple formulations for control of the coffee berry borer. **International Journal of Pest Management**, v.46, n.3, p.169-176, 2000.

GALLARDO-COVAS, F., HERNANDEZ, E., PAGAN, J. Presencia natural del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. en la broca del fruto del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Puerto Rico. **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v.94, p.195-198, 2010.

INFANTE, F., PÉREZ, J.; VEGA, F.E. Redirect research to control coffee pest. **Nature**, v.489, p.502-502, 2012.

JARONSKI, S.T. Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. **BioControl**, v.55, p.159-185, 2010.

MBANG, J.A.A.; MOUNJOUENPOU, P.; MAHOB, R.J.; MBARGA AMOUGOU, M.; MOUEN BEDIMO, J.; NYASSE, S. Evaluation naturelle de l'impact de *Beauveria bassiana*: champignon entomopathogene dans la dynamique de population de *Hypothenemus hampei*, scolyte de baies des cerises de *Coffea canefora* [sic]. **African Crops Science Journal**, v.20, n.2, p.443-451, 2012.

MONZÓN, A.J., GUHARAY, F., KLINGEN, I. Natural occurrence of *Beauveria bassiana* in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) populations in

unsprayed coffee fields. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.97, n.2, p.134–141, 2008.

MOTA, L.H.C., SILVA, W.D., SERMARINI, R.A., DEMÉTRIO, C.G.B., BENTO, J. M.S., DELALIBERA, I.JR. Autoinoculation trap for management of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) with *Beauveria bassiana* (Bals.) in coffee crops, **Biological Control**, v.111, p.32-39, 2017.

NEVES, P.M. O. J., HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.1, p.77-82, 2005.

POSADA-FLÓREZ, F. J. Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. **Journal of Insect Science**, v.8, n.41, p.1-13, 2008.

RANGEL, D.E.N.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. Evaluating Physical and Nutritional Stress during Mycelial Growth as Inducers of Tolerance to Heat and UV-B Radiation in *Metarhizium anisopliae* Conidia. **Mycological Research**, v.112, n.11, p.1362-1372, 2008.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2009. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>. Acesso em: 18 dez. 2018.

RODRIGUES, I. M.W.; FILHO, A.B.; GIORDANO, I.B.; DENADAE, B.E.; FERNANDES, J.B.; FORIM, M.R. Compatibility of polymers to fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their formulated products stability. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.39, n.4, p.457-464, 2017.

RODRIGUES, I.M.W.; FORIM, M.R.; DA SILVA, M.F. G.F.; J.B. FERNANDES, J.B.; FILHO, A.B. Effect of Ultraviolet Radiation on *Fungi Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, Pure and Encapsulated, and Bio-Insecticide Action on *Diatraea saccharalis*. **Advances in Entomology**, v.4, p.151-162, 2016.

RONDELLI, V.M.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MARQUES, E.J.; STURM, G.M.; TIBURCIO, M.O. Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no controle da traça-das-crucíferas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.46, n.2, p.212-214, 2011.

SAMUELS, R.I.; PEREIRA, R.C.; GAVA, C.A. T. Infection of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by Brazilian isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biocontrol Science and Technology**, v.12, n.5, p.631-635, 2002.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v.2, n.2, p.129-147. 2009.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A.J. The genus *Hypothenemus*, with emphasis on *H. hampei*, the coffee berry borer. In: VEGA, F. E.; HOFSTETTER, R. W. (Eds.). **Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species**. San Diego: Academic Press, 2015. p.427-494.

VERA, J.T.; MONTOYA, E.C.; BENAVIDES, P.; GÓNGORA, C.E. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as a control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) emerging from fallen, infested coffee berries on the ground. **Biocontrol Science and Technology**, v.21, n.1, p.1-14, 2011.

WRAIGHT, S.P.; GALAINI-WRAIGHT, S.; HOWES, R.L.; CASTRILLO, L.A.; CARRUTHERS, R.I.; SMITH, R.H.; MATSUMOTO, T.K.; KEITH, L.M. Prevalence of naturally-occurring strains of *Beauveria bassiana* in populations of coffee berry borer *Hypothenemus hampei* on Hawai'i Island, with observations on coffee plant-*H. hampei*-*B. bassiana* interactions. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.156, p.54-72, 2018.

YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J.; RAMOS-RAMÍREZ, E.; SALAZAR-MONTOYA, J. Rheological characterization of dispersions and emulsions used in the preparation of microcapsules obtained by interfacial polymerization containing *Lactobacillus* Sp. **European Food Research And Technology**, v.226, n.5, p.957-966, 2008.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v.17, p-553-596, 2007.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), tem causado diversos prejuízos na cafeicultura brasileira, devido à proibição do uso do principal inseticida, o endossulfan, em 2013, e a situação é agravada pela ausência de métodos de manejo eficientes para a praga.

A partir dos resultados, verificou-se que o monitoramento e redução populacional da broca-do-café na lavoura podem ser realizados com uso de armadilhas na coloração vermelha e a mistura atrativa, etanol: metanol, na proporção 1: 1 com a adição do ácido benzoico a 1%. As armadilhas devem ser instaladas na lavoura no início da fase de chumbinho e permanecer na área até a entressafra.

Para o controle da broca, recomenda-se o uso do fungo *Beauveria bassiana*. As aplicações devem ser realizadas, principalmente no início do estágio de chumbinho, e no início da maturação, períodos de maiores picos da praga na lavoura, e sempre que o nível populacional do inseto for de 1 a 2%. As aplicações devem ser realizadas em toda a planta e principalmente sobre os frutos, antes da entrada do inseto nos mesmos.

Mediante o exposto, o manejo de *H. hampei* pode ser realizado de forma eficiente com os métodos propostos nesse estudo.